

**Zum Vorkommen von Campylobacter
und Salmonellen in Rohmilch**

Ursula Scheirle

~~1988~~

Disbui. München

1989





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554801_0079

Aus dem
Staatlichen Tierärztlichen
Untersuchungsamt Aulendorf
ltd. Veterinärdirektor: Dr. Bruno Müller

vorgelegt über das

Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
(Lehrstuhl: Prof. Dr. G. Terplan)
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Zum Vorkommen von *Campylobacter*
und *Salmonellen* in Rohmilch

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Ursula S c h e i r l e

aus

Friedrichshafen

München 1988

*Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München*

Dekan:

Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent:

Univ.-Prof. Dr. Dr.h.c. G. Terplan

Korreferent:

Univ.-Prof. Dr. Dr. F. Bakels

Tag der Promotion:

24. Februar 1989

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Schrifttum	2
2.1. Campylobacter	2
2.1.1. Allgemeines	2
2.1.2. Taxonomie und Bedeutung	2
2.1.3. Nachweis und Identifizierung	6
2.1.4. Epidemiologie und milchhygienische Bedeutung	11
2.2. Salmonellen	18
2.2.1. Allgemeines	18
2.2.2. Taxonomie und Bedeutung	20
2.2.3. Nachweis und Identifizierung	22
2.2.4. Epidemiologie und milchhygienische Bedeutung	25
3. Eigene Untersuchungen	32
3.1. Material und Methodik	32
3.1.1. Untersuchungsmaterial und Probennahme	32
3.1.2. Nährböden und Reagentien	33
3.1.3. Isolierung von Campylobacter spp.	36
3.1.3.1. Allgemeine Untersuchungen	36
3.1.3.1.1. Direktausspatelung	36
3.1.3.1.2. Anreicherung	36
3.1.3.1.3. Auswertung	36
3.1.3.2. Spezielle Untersuchungen	38
3.1.3.3. Orientierende Untersuchung zum Einfluß des Laktoperoxidasesystems auf den Nachweis von Campylobacter spp.	38
3.1.4. Isolierung von Salmonellen	39
3.2. Ergebnisse	41
3.2.1. Untersuchungen auf Campylobacter spp.	41
3.2.1.1. Untersuchung von Milch und Zentrifugenschlamm	41
3.2.1.2. Versuche zum Einfluß des Laktoperoxidasesystems auf den Nachweis von Campylobacter spp.	42
3.2.2. Untersuchung der Proben auf Salmonellen	42
4. Besprechung der Ergebnisse und Diskussion	43
4.1. Ergebnisse der Untersuchung auf Campylobacter spp.	44
4.2. Ergebnisse der Untersuchung auf Salmonellen	46
4.3. Anmerkung zur Untersuchungsmethodik	47
5. Zusammenfassung / Summary	49
6. Literaturverzeichnis	51

1. Einleitung

Unter den Erregern von Durchfallerkrankungen haben *Campylobacter* spp. und *Salmonellen* weltweit erhebliche Bedeutung (SKIRROW, 1982; BRYAN, 1983). Lebensmittel tierischen Ursprungs, insbesondere rohes bzw. unzureichend erhitztes Fleisch und Geflügel, werden häufig für Ausbrüche und Erkrankungsfälle verantwortlich gemacht (MOSSEL, 1977; SILLIKER, 1980; PARK et al., 1981; BRYAN, 1983). In der Bundesrepublik Deutschland spielt seit der gesetzlich vorgeschriebenen Wärmebehandlung nahezu der gesamten Konsummilch dieses Lebensmittel als Vehikel für pathogene Keime nur noch eine untergeordnete Rolle. Dies hat sicherlich dazu beigetragen, daß das Interesse an Untersuchungen von Milch auf pathogene Keime, speziell *Salmonellen*, in den letzten Jahren nicht groß war und dementsprechend nur wenige neuere Daten über die Belastung vorliegen. Andererseits sind außerhalb der BRD in den letzten Jahren umfangreiche Ausbrüche durch rohe oder nicht ordnungsgemäß pasteurisierte Milch vorgekommen. So erkrankten in den USA 1986 mehr als 16 000 Menschen nach dem Konsum von mit *Salmonella typhimurium* kontaminierter Milch (LECOS, 1986). In der Schweiz kam es zu 500 Erkrankungen durch ein *Campylobacter jejuni* enthaltendes Milchgetränk (STALDER et al., 1983) und in Großbritannien, ebenfalls durch mit *Campylobacter* kontaminierte Milch, zu einem Ausbruch mit 2500 involvierten Personen (JONES et al., 1981b). Vor allem auch unter dem Aspekt des verstärkt propagierten Rohmilchkonsums war es daher Ziel der vorliegenden Arbeit, durch Untersuchung von Rohmilch auf *Campylobacter* spp. und *Salmonellen* einen Beitrag zur Einschätzung der aktuellen Bedeutung dieses Lebensmittels bei der Übertragung der genannten Erreger zu leisten.

2. Schrifttum

2.1 Campylobacter

2.1.1 Allgemeines

Bakterien der heute *Campylobacter* genannten Gattung sind in der Veterinärmedizin schon seit Anfang dieses Jahrhunderts als Erreger verschiedener Erkrankungen bekannt. So wurden sie unter anderem von MCFADYEAN und STOCKMAN (1913) im Zusammenhang mit Aborten bei Schaf und Rind, von JONES und LITTLE (1931a, b) als Verursacher bestimmter Diarrhöen des Rindes, von DOYLE (1944) als Erreger von Schweinedysenterien (nach FERNIE et al. (1975) nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von *Treponema hyodysenteriae*) und von PECKAM (1958) als auslösendes Agens von Leberentzündungen des Geflügels beschrieben. Erste Hinweise darauf, daß Vertreter des Genus auch humanpathogen sind, finden sich bei LEVY (1946) und VINCENT et al. (1947). Obwohl bereits KING (1957, 1962) vermutete, daß bestimmten *Campylobacter*-stämmen eine wesentliche Rolle bei den Durchfallerkrankungen des Menschen zukommt, wurde die Verbreitung dieser Infektionskrankheit erst nach Veröffentlichung der Untersuchungsergebnisse von SKIRROW (1977) klar. Bereits im Jahre 1981 überstieg in England und Wales die Zahl der *Campylobacter*-isolierungen (12496) die der *Salmonellen* (10745) (SKIRROW, 1982).

2.1.2 Taxonomie und Bedeutung

Die taxonomische Entwicklung des Genus *Campylobacter* ist kompliziert und soll hier nicht in allen Einzelheiten beschrieben werden. Detailliertere Darstellungen finden sich unter anderem bei KING (1962), KARMALI und FLEMING (1979a), DOYLE (1981) und OOSTEROM (1985).

Aufgrund morphologischer Ähnlichkeiten hatten SMITH und TAYLOR (1919) Bakterien, die heute der Spezies *Campylobacter* (C.) *fetus* zugerechnet werden, als *Vibrio* (V.) *fetus* dem Genus *Vibrio* untergeordnet. Vergleichende Untersuchungen zum Cytosin/Guanin-Gehalt bakterieller Desoxyribonukleinsäuren ließen 1963 SEBALD und VERON zu dem Schluß kommen, daß es gerechtfertigt sei, Stämme von V. *fetus* gemeinsam mit solchen von V. *bubulus* (FLORENT, 1959) zu einer neuen Gattung zusammenzufassen, für die sie den Namen *Campylobacter* (griech. "gebogener Stab") vorschlugen. Dieses Genus wurde 1973 von VERON und CHATELAIN ausführlich beschrieben und um einige ehemalige Vibrionen, darunter auch Stämme von V. *jejuni* (JONES et al., 1931), V. *coli* (DOYLE, 1948) sowie um von KING (1957, 1962) als "related vibrios" bezeichnete Stämme erweitert.

Die letztgenannte Gruppe ist von besonderer Bedeutung, da über sie die Verbindung zwischen Gastroenteritiden des Menschen und den später auch als "thermophile Gruppe" bezeichneten *Campylobacterspezies* (*C. jejuni*, *C. coli*, NARTC; SKIRROW (1981); siehe auch Tab. 2) hergestellt wurde. KING (1957, 1962) hatte bei der Untersuchung mikroaerophiler Vibrionen aus verschiedenen humanklinischen Materialien festgestellt, daß sich die Kulturen in zwei Gruppen unterteilen ließen, nämlich solche, die für *V. fetus* typische biochemische Reaktionen und Wachstumscharakteristika zeigten, und solche, die sich hinsichtlich der Vermehrungstemperaturen anders verhielten. Während *V. fetus* bei 25°C, nicht aber bei 42°C wuchs, vermehrten sich die Isolate der zweiten Gruppe bei 42°C, nicht aber bei 25°C. Ein weiterer Unterschied lag in den Symptomen, die die Erkrankten, von denen die Kulturen isoliert worden waren, zeigten. So war es nach einer Infektion mit den als *V. fetus* eingestuftten Isolaten in der Regel zu systemischen Erkrankungen gekommen, während sich eine Infektion mit Vertretern der zweiten, von KING (1962) als "related vibrios" bezeichneten Gruppe, als Erkrankung des Magen-Darm-Traktes geäußert hatte. KING (1962) selbst vermutete, daß die "related vibrios" möglicherweise mit der von JONES et al. (1931) beschriebenen Spezies *V. jejuni* (später nach VERON und CHATELAIN (1973) *C. jejuni*) identisch waren, während die letztgenannten Autoren sie eher der Spezies *C. coli* zuordnen wollten. KING's Beschreibung der Isolate läßt beide Möglichkeiten denkbar erscheinen. Etwa gleichzeitig mit VERON und CHATELAIN (1973) erarbeitete SMIBERT (1974) eine Taxonomie des Genus *Campylobacter*, die in die achte Auflage von Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1974) aufgenommen wurde. Demnach galt *C. jejuni* als Subspezies von *C. fetus*. *C. coli* wurde unter den species incertae sedis eingereiht. Auch hinsichtlich der "type species" bestanden Differenzen zu VERON und CHATELAIN (siehe Tab.1). Obwohl Klassifikation und Nomenklatur SMIBERT's lange Verwendung fanden, wurden sie schließlich zugunsten des Vorschlags von VERON und CHATELAIN aufgegeben. Die Gründe hierfür finden sich bei SMIBERT (1984) in der ersten Auflage von Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984).

Tabelle 1: Verschiedene Nomenklaturen des Genus *Campylobacter*
(nach KARMALI und FLEMING, 1979a)

VERON und CHATELAIN (1973)	SMIBERT (1974)	KING (1957)
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	<i>C. fetus subsp. intestinalis</i>	
<i>C. fetus subsp. veneralis</i>	<i>C. fetus subsp. fetus</i>	<i>Vibrio fetus</i>
<i>C. jejuni/coli</i>	<i>C. fetus subsp. jejuni</i>	"Related vibrios"
<i>C. sputorum</i>	<i>C. sputorum</i>	

Tabelle 2: Genus *Campylobacter* : Katalase-positive Spezies und deren Bedeutung

Spezies	Erstbeschreibung / heutige Benennung durch	Bedeutung	Bemerkungen
<i>C. fetus</i> susp. <i>fetus</i>	SMITH und TAYLOR (1919)/ VERON und CHATELAIN (1973)	Sporadische Aborte bei Schaf und Rind; seltener Opportunist des Menschen	Früher: <i>C. fetus</i> subsp. <i>intestinalis</i> (SMIBERT, 1974)
<i>C. fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	FLORENT (1953)/ VERON und CHATELAIN (1973)	Aborte und Fertilitätsstörungen beim Rind	Früher: <i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i> (SMIBERT, 1974)
<i>C. jejuni</i>	JONES et al. (1931)/ VERON und CHATELAIN (1973)	Enteritiden, seltener Septikämien beim Menschen; Aborte bei Schafen; Enteritiden bei Rindern	Früher: <i>C. fetus</i> subsp. <i>jejuni</i> (SMIBERT, 1974)
<i>C. coli</i>	DOYLE (1948)/ VERON und CHATELAIN (1973)	Enteritiden des Menschen; Darmbewohner gesunder Schweine	
<i>C. faecalis</i>	FIREHAMMER (1965)/ SHIBERT (1974)	Isoliert aus Fäzes von Schafen	
<i>C. hyointestinalis</i> *1)	GEHART et al. (1983)/ GEHART et al. (1985)	Isoliert von Schweinen mit proliferativer Ileitis	
<i>C. cryaerophila</i> *1)	ELLIS et al. (1977)/ NEILL et al. (1985)	Isoliert aus abortierten Feten von Rind, Schaf, Schwein; Mastitiden des Rindes	Früher: aerotolerante Gruppe
<i>C. lariidis</i> *1)	SKIRROW und BENJAMIN (1980a)/ BENJAMIN et al. (1983)	Vorkommen bei Seemöven; Enteritiden des Menschen	Früher: NARTC *2)
<i>C. pylori</i> *1)	MARSHALL (1983); WARREN (1983)/ MARSHALL und GOODWIN (1987)	Isoliert von der Oberfläche der Magenschleimhaut des Menschen; Zusammenhang mit Gastritiden	Früher: <i>C. pyloridis</i>
<i>C. cinaedi</i> *1) <i>C. fennelliae</i> *1)	QUINN et al. (1983)/ TOTTEN et al. (1985)	Proctitis, Proctocolitis und Enteritis bei homosexuellen Männern	Früher: <i>CLO</i> *3)

Anmerkungen:

1) Nicht in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984) aufgenommen

2) Nalidixic acid - resistant thermophilic campylobacters

3) *Campylobacter* - like organisms

Tabelle 3: Genus Campylobacter: Katalase-negative Spezies und ihre Bedeutung

Spezies	Erstbeschreibung / heutige Benennung durch	Bedeutung
<i>C. sputorum</i> subsp. <i>sputorum</i>	PREVOT, 1940/ VERON und CHATELAIN, 1973	Kommensale der Mundschleimhaut des Menschen
<i>C. sputorum</i> subsp. <i>dobulus</i>	FLORENT, 1953 *2) / VERON und CHATELAIN, 1973	Kommensale des Genitaltraktes von Rind, Schaf und Pferd
<i>C. sputorum</i> subsp. <i>mucosalis</i>	LAWSON und ROWLAND, 1974	Isoliert von Schweinen mit intestinaler Adenomatose
<i>C. concisus</i>	TANNER et al., 1981	Isoliert von Menschen mit Ent- zündungen der Mundschleimhaut; ätiologischer Zusammenhang ungeklärt
<i>C. nitrofigilis</i> *1)	McCLUNG und PATRIQUIN, 1980/ McCLUNG et al., 1983	Isoliert von Salzwasserpflanzen
<i>C. upsaliensis</i> *1)	PATTON et al., 1987	Isoliert aus dem Darm von Hunden

Anmerkungen: 1) nicht in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984) aufgenommen
2) abweichend hiervon Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984)

Neben den bisher genannten wurden weitere Spezies beschrieben und zur Aufnahme in die Gattung *Campylobacter* vorgeschlagen bzw. bereits in sie aufgenommen. Eine Zusammenstellung zeigen die Tab. 2 und 3.

Im Zusammenhang mit Gastroenteritiden des Menschen sind vor allem die Spezies *C. jejuni* und *C. coli* von Bedeutung. Drei bis fünf Prozent aller Infektionen sollen von *C. coli* hervorgerufen werden (KARMALI und SKIRROW, 1984). Welcher Stellenwert den übrigen in den Tab. 2 und 3 aufgeführten Arten zukommt, ist noch ungeklärt. *C. laridis* wurde ursprünglich als vermutlich apathogen angesehen, doch sprechen neuere Berichte dafür, daß er in der Lage ist, ähnliche Krankheitssymptome hervorzurufen wie *C. jejuni* (TAUXE et al., 1985; SIMOR und WILLCOX, 1987). Im wesentlichen unklar ist auch noch die Rolle von *C. cinaedi* und *C. fennelliae*. Erkrankungsfälle konnten bisher nur bei männlichen Homosexuellen in den USA nachgewiesen werden (QUINN et al., 1983). *C. pylori* wird mitverantwortlich gemacht für die Entstehung von Gastritiden und Magen-/Duodenalgeschwüren (MARSHALL und WARREN, 1983). Schließlich wurden in letzter Zeit atypische *Campylobacter*-stämmen beschrieben, bei denen ein ätiologischer Zusammenhang mit dem Auftreten von Gastroenteritiden nachgewiesen werden konnte (STEELE et al., 1985; TEE et al., 1987).

2.1.3 Nachweis und Identifizierung

Der Nachweis enteropathogener *Campylobacter*spezies ist problematisch. Dies liegt zum einen daran, daß die Erreger streng mikroaerophil sind, zum anderen an ihrer relativ hohen Empfindlichkeit gegenüber antagonistischen Einflüssen einer eventuell vorhandenen Begleitflora. Die zur Vermehrung notwendigen mikroaeroben Bedingungen (5 bis 6% O₂) können auf verschiedenen Wegen erreicht werden. Möglichkeiten hierzu bestehen in der Erzeugung eines geeigneten Gasgemisches, zum Beispiel durch gemeinsame Bebrütung mit einem rasch wachsenden fakultativ anaeroben Keim (Fortner-Prinzip) (KARMALI und FLEMING, 1979b), Abbrennen einer Kerze in einem geschlossenen Anaerobiergefäß (candle jar technique) (BLASER et al., 1980b), Absaugen eines Teiles der Luft aus einem Anaerobiergefäß und Ersatz durch ein CO₂/N₂-Gemisch (evacuation replacement, BUCK et al., 1982) (BUTZLER et al., 1973), chemische Herabsetzung des Sauerstoffgehaltes mit gas generating systems (SIMMONS und GIBBS, 1977) oder Einstellung eines geeigneten Gasgemisches im Begasungsbrutschrank (LANDER und GILL, 1980). Eine Alternative zu diesen Verfahren stellt die Erhöhung der Aerotoleranz der Keime durch geeignete Nährbodenzusätze dar (KINGSCOTE, 1961; BOWDRE et al., 1976; GEORGE et al., 1978; HOFFMAN et al., 1979a, b; BOLTON und COATES, 1983). Blut soll dabei am besten in der Lage sein, toxische

Tabelle 4: Feste Selektivnährböden zum Nachweis von *C. jejuni*, *C. coli* und *C. lariidis*

Nährböden							
Nährboden- Bestandteile	DEKESER et al. (1972)	LAUMENS et al. (1978) (Butzler-Medium)	SKIRROW (1977) (Skirrow-Medium)	BLASER et al. (1978)	BLASER et al. (1979b) (Campy- BAP, Blaser-Wang Nährboden)	BOLTON und ROBERTSON (1982) (Preston Medium)	BOLTON et al. (1984b), (CCD-Agar)
Thioglycolat Agar Brucella Basis Nr. 2 Brucella Agar Basis Nutrient Broth No. 2 New Zealand Agar	+	+	+ *1)	+	+	25 g/l 12 g/l	25 g/l 12 g/l
Defibriniertes Schafsblut Schäferlythozyten Lysiertes Pferdeblut Holzkohle Kaseinhydrolysat Na-Desoxycholat Eisensulfat Na-Pyruvat	15%	15%	5-7%	10%	10%	5%	4 g/l 3 g/l 0,1%
Bacitracin *4) Polymyxin B Sulfat *4) Novobiocin *4) Cycloheximid *4) Colistin *4) Cefalotin *4) Vancomycin *4) Trimethoprim *4) Amphotericin B *4) Rifampizin *4) Cefazolin *4)	25 I. U. 10 I. U. 5 µg 50 µg	25 I. U. 5 µg 50 µg 10 I. U. 15 µg	2,5 I. U.	2,5 I. U.	2,5 I. U.	5 I. U. 100 µg	10 µg *3)
Anmerkungen: 1) nach BUTZLER und SKIRROW (1979) 2) nach BUTZLER und SKIRROW (1979) ersetzt durch Cefazolin (15 µg) 3) nach HUTCHINSON und BOLTON (1983) ersetzt durch Cefepazon (32 µg) - mod. CCDA 4) Konzentrationsangaben bezogen auf 1 ml fertigen Nährboden							
0,025%							

Sauerstoffderivate wie Wasserstoffsuperoxid zu neutralisieren, ebenso ein Supplement aus Natriumpyruvat, Natriummetabisulfid und Eisen(II)sulfat, das im Handel erhältlich ist (BOLTON et al., 1984a, b) (siehe Tab. 4 u. 5).

Die Methoden des selektiven Nachweises des Erregers in Stuhlproben wurden der veterinärmedizinischen C. fetus-Diagnostik bei Deckbullen entnommen und basieren entweder auf der Filtration des verdünnten und zentrifugierten Untersuchungsmaterials mittels Filter, deren Poren *Campylobacter*, nicht aber andere gramnegative Bakterien, wie *Enterobacteriaceae* oder *Pseudomonaden*, passieren können (PLUMER et al., 1962) oder auf dem Zusatz von selektiv wirksamen Komponenten (Antibiotika) zu Blutagar. Beide Verfahren wurden zunächst kombiniert eingesetzt (SHEPLER et al., 1963; DEKEYSER et al., 1972; BUTZLER et al., 1973). Die Filtrationstechnik ist allerdings sehr arbeitsaufwendig und - auch dies war im veterinärmedizinischen Bereich bereits seit längerem bekannt - mit einer merklichen Reduzierung des *Campylobacter*gehaltes im Untersuchungsmaterial verbunden (DUFTY, 1967). SKIRROW (1977) eliminierte daher bei seinen Untersuchungen zum Vorkommen von *C. jejuni* und *C. coli* in Stuhlproben den Filtrationsschritt und beschränkte sich auf den direkten Nachweis der Erreger mit Hilfe eines antibiotikahaltigen Mediums, das bei 43°C in einem Gasgemisch aus 5% Sauerstoff, 10% Kohlendioxid und 85% Stickstoff bebrütet wurde. Nach dieser Methode wird im wesentlichen auch heute noch vorgegangen, wenn auch die Medien hinsichtlich ihrer Zusammensetzung zahlreiche Modifikationen erfahren haben. In den Untersuchungen von HEISICK (1985); HUNT et al. (1985); NG et al. (1985) und GUN-MUNRO et al. (1987) wurden einige häufig eingesetzte Nährmedien hinsichtlich des Wachstums und der leichten Identifizierbarkeit von *C. jejuni/coli* verglichen. Eine Zusammenstellung häufig eingesetzter fester Selektivnährböden findet sich in Tab. 4.

Hinsichtlich des Wertes flüssiger Selektivanreicherungen vor dem Ausstrich auf ein festes Selektivmedium bestehen im Schrifttum unterschiedliche Auffassungen. MORRIS und PATTON (1985) und AGULLA et al. (1987) empfehlen bei der Untersuchung von Stuhlproben eine Anreicherung nur dann, wenn sich zum Beispiel der Transport des Untersuchungsmaterials verzögert hat, nur geringe Keimgehalte zu erwarten sind oder die Patienten, von denen die Proben stammen, bereits behandelt worden sind. Bei der Untersuchung von Lebensmitteln kann, vor allem im Falle geringgradiger Kontamination mit *Campylobacter* spp., die Anreicherung wesentliche Vorteile erbringen. So wiesen DOYLE und ROMAN (1982b) in Rohmilch mit einer Begleitflora von 10^5 bis 10^6 Keimen/ml noch Gehalte von 1 bis 4 *Campylobacter*/ml regelmäßig und solche von 0,1 bis 0,4/ml in 80% der untersuchten Proben nach. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen, ebenfalls bei der Untersuchung von Rohmilch, auch De BOER et al. (1984). Auf die Zusammensetzung der zahlreichen, bei der Untersuchung verschiedener Lebensmittel auf *Campylobacter* spp. eingesetzten Anreicherungsmedien soll hier nicht weiter eingegangen werden. Nähere Angaben finden sich unter anderem bei ACUFF et al. (1982), STERN (1982), HEISICK et al.

Tabelle 5: Anreicherungsmedien zum Nachweis von C. jejuni und C. coli in Milch und Milchprodukten

Nährböden								
Nährboden- bestandteile	LANDER und GILL (1980)	DOYLE und ROMAN (1982a)	EHLERS et al. (1982)	HANNINEN (1982)	OOSTEROM et al. (1982)	De BOER et al. (1984); Preston- anreicherungs- medium nach BOLTON u. ROBER- TSON (1982)	LOVETT et al. (1983)	
Brucella Bouillon Veal infusion Broth Thioglycolat Bouillon Nutrient Broth No. 2 Agar	+	+	+	+	+	+	+	
Lyisiertes Pferdeblut Holzkohle Natriumsuccinat Cysteinhydrochlorid Eisensulfat Natriumtetrakisulfat Natriumpyruvat	7% 1%	7% 0,3% 0,01%	0,05% 0,05% 0,05%	0,05% 0,05% 0,05%	7%	5%	0,025% 0,025% 0,025%	0,025% 0,025% 0,025%
Amphotericin B *1) Polymyxin B Sulfat *1) Vancomycin *1) Trimethoprim *1) Natriumdesoxycholsäure *1) Cycloheximid *1) 5-Fluoruracil *1) Cephalothin *1) Rifampicin *1) Natriumlaurylsulfat *1)	10 I. U. 40 µg 20 µg 20 µg 100 µg 500 µg	20 I. U. 15 µg 5 µg 50 µg	2 µg 2,5 I. U. 10 µg 5 µg 15 µg	2 µg 5 I. U. 10 µg 5 µg 2 mg	10 I. U. 40 µg 30 µg 100 µg	5 I. U. 10 µg 100 µg	5 I. U. 15 µg 7,5 µg	
Bebrütung (h/C°)	48/37	16-18/42	12/4, dann 48/42	48/42	24/37	48/42	24/42	
Ausstrich auf *2)	Schädlutagar/ mod. Skirrow- Medium	Campy-BAP	mod. Campy-BAP	mod. Skirrow- Medium	Skirrow- Medium	Preston Medium	mod. Skirrow- Medium	

Anmerkungen:

1) Konzentrationsangaben bezogen auf 1 ml fertigen Nährboden

2) siehe Tabelle 4

Tabelle 6: Phänotypische Charakteristika von *Campylobacter* spp.
(nach MORRIS und PATTON, 1985)

Spezies	Wachstum					biochemische Reationen					andere Tests			
	25°C	36°C	42°C	1% Glycerine	3,5% NaCl	Oxidase	Katalase	Glucose * b)	Nitratreduktion	H ₂ S im TSI	Hippurathydrolyse *c)	Nalidixinsäure	Cephalothin *d)	Wasserstoff *e)
<i>C. jejuni</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	S	R	-
<i>C. coli</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	S	R	-
<i>C. laridis</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	R	R	-
<i>C. fecalis</i>	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	d	S	-
<i>C. fetus</i> sūpsp. fetus	+	+	d	+	-	+	+	-	+	-	-	R	S	-
<i>C. fetus</i> subsp venerealıs	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	d	S	-
<i>C. hyointestinalis</i>	d	+	d	+	-	+	+	-	+	+	-	R	S	
<i>C. sputorum</i> subsp. sputorum	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	R	S	-
<i>C. sputorum</i> subsp. bulbulus	d	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	d	S	-
<i>C. sputorum</i> subsp. mucosalıs	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	d	S	+
<i>C. concisus</i>	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+		R		+
<i>C. cinaedi</i>	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	S	S	
<i>C. fennelliae</i>	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	S	S	
<i>C. pylori</i>		+				+	+	-	-			R		
								*f)						
<i>C. cryaerophila</i>	+	+	-	d	-	+	+	-	-	-	-	S	R	

Anmerkungen:

- a) Symbole: +, 90% oder mehr der Stämme sind positiv
 -, 90 % oder mehr der Stämme sind negativ
 d, 11 bis 89 % der Stämme sind positiv
 R, resistent
 S, empfindlich
 TSI, Triple-sugar-Iron (3-Zucker-Eisen-Agar)
 b) Fermentation oder Oxidation von Glucose
 c) Ninhydrintest
 d) 30-µg-disk
 e) Wasserstoff ist für microaerophiles Wachstum nötig
 f) Oxidation von Glucose nicht angezeigt

(1984), BEUCHAT (1985), HEISICK (1985), STERN et al. (1985), PALUMBO (1986) und FRICKER (1987). Einige, beim Nachweis der Erreger in Milch, zum Teil auch in Milchprodukten (EHLERS et al., 1982), eingesetzte Medien sind in Tab. 5 zusammengestellt.

Die Beurteilung der nach dem Ausstrich und der Bebrütung auf festen Nährböden gewachsenen Kolonien ist nicht unproblematisch, da keine morphologischen Besonderheiten vorliegen und das Aussehen variieren kann (SMIBERT, 1974; MITSCHERLICH, 1981). Auf selektivem Blutagar haben Kolonien thermophiler *Campylobacter*spezies einen Durchmesser von etwa 1 mm, einen unregelmäßig gezackten oder auch runden Rand und eine graue bis rosa Färbung. Sie können auch bräunlich-schleimig erscheinen (STERN, 1982). Auf der feuchten Nährbodenoberfläche neigen die Keime zum Schwärmen (KARMALI et al., 1981). Im Phasenkontrastmikroskop stellen sich Vertreter des Genus *Campylobacter* als schlanke, spiralig gedrehte, sporenlose Stäbchen mit einer Breite von 0,2 bis 0,5 μm und einer Länge von 0,5 bis 5 μm dar. Mittels einer oder zwei jeweils polar gelegener Geißeln bewegen sie sich in typisch korkenzieherartigen Bewegungen fort. In alten Kulturen oder an der Luft kann Degeneration zu kokkoiden Formen auftreten (KARMALI et al., 1981; SMIBERT, 1984; MORRIS und PATTON, 1985).

Zur Bestätigung verdächtiger Isolate werden in der Routinediagnostik neben der mikroskopischen einige weitere, vor allem auch biochemische Untersuchungen durchgeführt, mit deren Hilfe auch die Spezieszugehörigkeit zumindest orientierend zu ermitteln ist. Eine Übersicht hierzu findet sich in Tab. 6. Auf inzwischen entwickelte Schnelltests (KAZMI et al., 1986; MEGRAUD et al., 1987) soll hier nicht weiter eingegangen werden.

2.1.4 Epidemiologie und milchhygienische Bedeutung

C. jejuni und *C. coli* wurden in den letzten Jahren verstärkt als Erreger von Enteritiden beim Menschen nachgewiesen. Sie fanden CROTTI et al. (1987) im Stuhl durchfallerkrankter Personen in 28% der Fälle *Campylobacter* spp., in 24% *Salmonellen* und in 8% enteropathogene *Escherichia coli*. Erkrankungen werden beim Menschen mit Hunden (BLASER et al., 1978), Katzen (BLASER et al., 1980a; SKIRROW et al., 1980c), Nagetieren (FERNIE und PARK, 1977), Schafen (BROUWER et al., 1979), Kühen (ROBINSON et al., 1979), Hühnern (BROUWER et al. 1979), Wassergeflügel (LUECHTEFELD et al., 1980; WUNDT und KASPER, 1982), Vögeln (SMIBERT, 1969; WUNDT und KASPER, 1982) und vielen anderen Wild- und Zootieren (GLOUCESTER, 1979; LUECHTEFELD et al., 1981), auch mit Insekten (ROSEF und KAPPERUD, 1983) in Zusammenhang gebracht. Auch Übertragungen von Mensch zu Mensch werden beschrieben (BUTZLER und SKIRROW, 1979). Als unbelebter Vektor hat verunreinigtes Wasser eine

erhebliche Bedeutung (SMIBERT, 1969; BLASER et al., 1980a; MENZING, 1981; SKIRROW, 1982; WUNDT und KASPER, 1982; ROLLINS und COLWELL, 1986; ANONYM, 1987). Nach WUNDT und KASPER (1982) sind *Campylobacter* spp. in der Lage in 4°C kaltem Wasser bis zu 4 Wochen und in 25°C kaltem Wasser bis zu 4 Tagen zu überleben. Einen Vergleich der Isolierungen thermophiler *Campylobacter* spp. aus Flußwasser und aus anderen Quellen findet sich in Tab. 7.

Tabelle 7: Isolierungen thermophiler *Campylobacter* spp. von klinisch gesunden Menschen und Tieren sowie aus Wasser (nach TEUFEL, 1983)

Flußwasser	Rind	Geflügel	Schwein	Hund	Katze	Mensch
bis 53%	10-43%	14-91%	66-88%	13-49%	bis 53%	0-1,6%

Als Vehikel insbesondere im Zusammenhang mit Gruppen- und Massenerkrankungen scheinen Lebensmittel tierischen Ursprungs die größte Rolle zu spielen (SKIRROW, 1982; MORRIS und PATTON, 1985). Dabei handelt es sich in erster Linie um rohe oder unzureichend hitzebehandelte Fleisch- und Geflügelprodukte (PARK et al., 1981; TURNBULL und ROSE, 1982; HARTOG et al., 1983) und rohe oder fehlerhaft pasteurisierte Milch. So wurden zum Beispiel in England und Wales zwischen 1978 und 1980 3553 Einzelfälle von *Campylobacteriose* durch Rohmilchgenuß registriert (BRANDL, 1985).

Tab. 8 gibt einen Überblick über 21 größere, in der Literatur beschriebene Ausbrüche von *C. jejuni*-Enteritiden aus unterschiedlichen Ländern, die in Zusammenhang mit Milchkonsum standen. In etwa 25% der Ausbrüche konnte der Erreger aus der Milch oder aus Milchfiltern isoliert werden, in 60% der Fälle aus den Fäzes der betreffenden Kühe. Bei allen anderen Ausbrüchen war nur anhand retrospektiv durchgeführter epidemiologischer Erhebungen die Milch mit hoher Wahrscheinlichkeit als Infektionsquelle zu vermuten. Im Schrifttum finden sich neben diesen Fallstudien zahlreiche Berichte über Untersuchungen von Rohmilch zum Vorkommen von *Campylobacter* spp. (siehe Tab. 11).

Ebenso, wie bereits bei den Daten in Tab. 8 fällt die relativ niedrige Isolierungsrate von *Campylobacter* spp. aus Milch bzw. Milchfiltern auf. Hierfür könnte es mehrere Gründe geben. So vergehen meist 10 oder mehr Tage zwischen Konsum, Probennahme und Untersuchung der verdächtigen Milch. Auch sind die angewandten Untersuchungsmethoden oft nicht optimal (De BOER et al., 1984). Eine wesentliche Rolle spielt auch die Tatsache, daß die zur Auslösung einer Erkrankung notwendige infektiöse Dosis offensichtlich sehr gering ist. ROBIN-

Tabelle 8: *Campylobacter*-Enteritiden nach dem Genuß von Rohmilch

Ort / Jahr	Krankheitsfälle	Fäzes der Milchkühe des Erzeugerbestandes	Milch	Milchfilter	Autoren
Cumbria (GB)/1978	63	+	-	-	ROBINSON et al., 1979
Bradford (GB)/1978	14	+	+	+	ROBINSON et al., 1979
K.A. *1) (GB)/1979	3	+	-	-	BLASER et al., 1979a
Aberdeen (GB)/1980	180	+	-	+	PORTER und REID, 1980
Luton (GB)/1979	2500	-	-	-	JONES et al., 1981b
Edmonton (USA)/1980	64	-	+	-	MCAUGHTON et al., 1982
Oregon (USA)/1980-1981	91	-	-	-	TERRHINE et al., 1981
K.A. /1981	24	-	-	-	JONES et al., 1981a
Manchester (GB) / K.A. *1)	34	-	-	-	JONES et al., 1981a
Arizona (USA)/1981	190	+	-	-	TAYLOR et al., 1982b
Atlanta (USA)/1981	50	+	-	-	POTTER et al., 1983
Basel (CH)/1981	500	+	-	-	STALDER et al., 1983
Derbyshire (GB)/1981	46	+	-	-	WRIGHT et al., 1983
Derbyshire (GB)/1982	22	+	-	-	WRIGHT et al., 1983
Pennsylvania (USA)/1983	57	+	-	-	ANONTH, 1983
Burlington (USA)/1982	15	+	-	-	VOGT et al., 1984
Vermont (USA)/1983	8	+	+	-	HUDSON et al., 1984
California (USA)/1984	35	+	-	-	ANONTH, 1984a
British Columbia (CAN)/1984	9	-	-	-	ANONTH, 1984b
K.A. *1) (GB)/1983	75	+	+	+	HUTCHINSON et al., 1985
California (USA)/1985	23	-	-	-	ANONTH, 1986

Anmerkungen: 1) K.A. = keine Angabe

2) ein anderer Serotyp als bei den Erkrankten

+ Erreger nachgewiesen

- Erreger nicht nachgewiesen

Tabelle 9: Vermehrung und Überlebensdauer von *Campylobacter* spp. in Milch

Beeinflussende Faktoren	Bemerkungen
Art und Anzahl antagonistischer Keime; pH-Wert	Durch zunehmende Säuerung werden <i>Campylobacter</i> spp. abgetötet (DOYLE und ROMAN, 1982b; CHRISTOPHER, et al., 1982; WATERMAN und PARK, 1982; WUNDT et al., 1985).
Höhe der Kontamination mit <i>Campylobacter</i> spp.	Bei einer Ausgangskontamination von 10 - 10 000 Zellen/ml Milch waren nach bis zu 8 Tagen lebende Keime nachweisbar; bei einer Ausgangskontamination von 1 - 10 Zellen/ml Milch überlebten sie weniger als 4 Tage (De BOER et al., 1984). Eine Vermehrung findet unter normalen Haushalts und Laborbedingungen nicht statt (BLASER et al., 1980a; STALDER et al., 1983).
Art und Tenazität der <i>Campylobacter</i> -Stämme	(DOYLE und ROMAN, 1982a; De BOER et al., 1984)
Lagerungstemperatur und Milcherhitzung	Milch (pH 6,9) mit $5,7 \times 10^5$ Keimen beimpft: bei 5°C überlebt <i>C. jejuni</i> 15 Tage, bei 22°C überlebt <i>C. jejuni</i> 7 Tage (WUNDT et al., 1985). Bei 60°C überlebte nur ein menschlicher <i>C. jejuni</i> -Stamm länger als 1 Minute, wurde aber nach 80 s abgetötet (Ausgangskontamination 10^6 Zellen/ml) (GILL et al., 1981). Bei 63°C werden 10^5 Zellen in < 17,6 s abgetötet (PARK et al., 1987). Die Kurzzeitpasteurisierung über 15 s bei 71,7°C (USA) genügt um $2,3 \times 10^6$ Zellen/ml abzutöten (GILL et al., 1981). Weitere Untersuchungen siehe: (BARRELL, 1981; ROBINSON und JONES, 1981; CHRISTOPHER et al., 1982; DOYLE und ROMAN, 1982b; WATERMAN, 1982; BEUMER et al., 1985).
Originäre antimikrobielle Prinzipien	Durch das Laktoperoxidasesystem der Milch werden <i>Campylobacter</i> spp. abgetötet oder negativ in ihrem Wachstum beeinflusst (DOYLE und ROMAN, 1982; BEUMER et al., 1985).

SON (1981) erkrankte in einem Selbstversuch bereits nach Aufnahme von 500 *Campylobacter*zellen in Milch. Zu berücksichtigen ist auch die Tatsache, daß *Campylobacter* sich in Milch nicht vermehren können und die Überlebensdauer nur begrenzt ist. In Tab. 9 findet sich eine Zusammenstellung bisher in diesem Zusammenhang durchgeführter Experimente.

Die Wege, auf denen Milch mit *Campylobacter* spp. kontaminiert werden kann, sind noch weitgehend ungeklärt. Vorstellbar wären die in Tab. 10 dargestellten Möglichkeiten.

Tabelle 10: Kontamination der Milch mit *C. jejuni*/*C. coli*

Fäkale Verunreinigung	- Während des Melkens - Nach dem Melken ROBINSON et al., 1979; De BOER et al., 1984
Kontaminiertes Trinkwasser	SMIBERT, 1969; BLASER et al., 1980a; MENZING, 1981; SKIRROW, 1982; WUNDT und KASPAR, 1982; ROLLINS und COLWELL, 1986; ANONYM, 1987; HUMPHREY und BECKETT, 1987
Mastitiden	LANDER und GILL, 1980; ANONYM, 1981; LOGAN et al., 1982; LANDER und BASKERVILLE, 1983; HUDSON et al., 1984; HUTCHINSON et al., 1985; MORGAN et al., 1985; NEUMANN, 1985

Für eine Kontamination der Milch mit *Campylobacter* spp. wird neben der fäkalen Verunreinigung vor allem die Ausscheidung des Erregers bei *Campylobacter*mastitiden diskutiert. Erste Hinweise auf die Möglichkeit von Euterentzündungen durch *C. jejuni*/*coli* finden sich bei LANDER und GILL (1980). Diesen gelang es auch mit sehr niedrigen infektiösen Dosen nach intramammärer Verabreichung klinische Mastitiden auszulösen und den Erreger in dem Sekret der erkrankten Viertel in hohen Zahlen nachzuweisen. Der Verlauf einer *Campylobacter*mastitis kann ein weites Spektrum an Erscheinungsformen aufweisen. So beobachteten LANDER und BASKERVILLE (1983) verschiedene Abstufungen zwischen milden inapparenten und schweren klinischen Bildern. Unterschiede hinsichtlich der Virulenz sollen auch zwischen einzelnen Biotypen von *C. jejuni* bestehen: NEUMANN (1985) konnte nur mit einem humanen, nicht aber mit bovinen Stämmen Euterentzündungen provozieren.

1981 wurde, wahrscheinlich zum ersten Mal, in Großbritannien über eine nicht experimentell, vermutlich durch *C. jejuni* bedingte Euterentzündung berichtet (ANONYM, 1981). Nähere Anga-

ben sind dieser Leserzuschrift nicht zu entnehmen. Auch LOGAN et al. (1982) konnten mit einer aus Mastitissekret isolierten "aerotoleranten" *Campylobacter*kultur bei vier Tieren Symptome einer klinischen Euterentzündung hervorrufen. Der Erreger wurde allerdings nur in der Milch eines der Tiere nachgewiesen und auch hier lediglich in einer vier Stunden nach der Verbringung ins Euter gezogenen Probe. Drei weitere, im Schrifttum gefundene Berichte über Untersuchungen im Zusammenhang mit wahrscheinlich durch Milch hervorgerufenen menschliche Erkrankungen ergeben ebenfalls kein klares Bild über die tatsächliche Bedeutung von *Campylobacter*mastitiden für die Kontamination der Milch. So wiesen HUDSON et al. (1984) bei einer Jerseykuh in zwei aufeinanderfolgenden Untersuchungen *C. jejuni* in der Milch nach. Weder eine klinische Mastitis noch Durchfall wurden bei dem Tier beobachtet. Die leicht erhöhte Zahl der somatischen Zellen von 500 000 - 700 000/ml deutete jedoch auf das Vorliegen einer subklinischen Mastitis hin. Der *Campylobacter*-Serotyp, der aus der Milch und dem Stuhl erkrankter Menschen isoliert wurde, war derselbe. Im Kot der Kuh wurde jedoch ein anderer Serotyp gefunden.

MORGAN et al. (1985) isolierte aus dem Euter einer Kuh dreimal hintereinander *C. jejuni*. Wahrscheinlich war das Viertel länger als zwölf Wochen infiziert. Abgesehen von zwei Episoden einer leichten klinischen Mastitis blieb die Infektion subklinisch. Die Höchstzahl der ausgeschiedenen Keime betrug 10^4 /ml.

HUTCHINSON et al. (1985) fanden bei umfassenden Untersuchungen nach einem Enteritisausbruch bei Milchkonsumenten zwei positive Milchproben von zwei verschiedenen Kühen. Keines der Tiere wies Anzeichen einer Mastitis auf. Beide Kühe hatten hohe Antikörpertiter in der Molke. Zehn Tage später waren alle Milchproben negativ. Bevor jedoch der Serotyp festgestellt werden konnte, waren die Kulturen abgestorben.

Tabelle 11: Untersuchungen zum Vorkommen von Campylobacter spp. in Rohmilch

Zahl, Art und Herkunft der Rohmilchproben	Positive Proben	Autoren
400 Tankmilchproben von Farmen in Gouda	0	OOSTEROM et al. (1982)
50 Mastitismilchproben	0	OOSTEROM et al. (1982)
100 Milchtankproben von Farmen in Texas	0	CHRISTOPHER et al. (1982)
100 Milchproben versch. Kühe 2-er Herden	0	CHRISTOPHER et al. (1982)
108 Milchtankproben von Farmen in Wisconsin-Madison	1	DOYLE und ROMAN (1982b)
50 Milchproben von Kühen	0	WYATT und TIMM (1982)
106 Mastitisproben	0	ROSEF et al. (1983)
195 Milchtankproben von Farmen in Ohio	3	LOVETT et al. (1983)
1200 Milchtankproben von Farmen in Ost-Niederlande	2	De BOER et al. (1984)
600 Kannenmilchproben einer Molkerei	0	De BOER et al. (1984)
750 Mastitisproben	0	De BOER et al. (1984)
600 Mastitisproben	0	WATERMAN et al. (1984)
200 Milchproben	0	BECKER und TERPLAN (1984)
760 Milchtankproben von Erzeugerbetrieben in der Schweiz	0	(unveröffentlichte Ergebnisse)
157 Milchtankproben von 12 Farmen in Devon	0	BREER (1984)
111 Milchproben von Kühen mit C. jej.-pos. Fäzes von 5 Farmen	9	HUMPHREY und BECKETT (1987)
30 Milchproben von Kühen mit C. jej.-neg. Fäzes von 2 Farmen	0	HUMPHREY und BECKETT (1987)

2.2 Salmonellen

2.2.1 Allgemeines

An den durch Lebensmittel übertragenen, mikrobiell bedingten Infektionen und Intoxikationen haben die Salmonellen weltweit einen erheblichen Anteil. Wie aus einer Zusammenstellung der den jeweiligen Überwachungsorganen in verschiedenen west-europäischen und nordamerikanischen Ländern gemeldeten Ausbrüche und Fälle zeigt, kann dieser bis zu über 80 bzw. 60% betragen (Tab. 12). Die Einbeziehung von Entwicklungsländern in die Tabelle war nicht möglich, da einigermaßen gesicherte Zahlen fehlen und sich zudem die lebensmittelhygienischen Grundvoraussetzungen wesentlich von denen industrialisierter Länder unterscheiden (siehe hierzu zum Beispiel ABDUSSALAM, 1980; EZENWA, 1986; HOUENDA, 1986; KASIRYE-ALEMU, 1986).

Die in der Tabelle dargestellten Daten spiegeln nur bedingt die tatsächlichen Verhältnisse. Zum einen geben sie in manchen Fällen den bereits einige Jahre zurückliegenden Stand wieder (neueres Zahlenmaterial lag im Schrifttum nicht vor), zum anderen wird nur ein relativ geringer Prozentsatz aller Erkrankungen bekannt. MOSSEL (1977) geht davon aus, daß lediglich 1-5% aller Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen gemeldet werden. In den USA soll die Dunkelziffer sogar bei 99% liegen (YOSHIKAWA et al., 1980). ARCHER und KVENBERG (1985) schätzen, daß real 68,7 bis 275 Millionen Fälle von Durchfallerkrankungen jährlich in den USA auftreten. Demnach würde jeder US-Bürger etwa eine derartige Erkrankung pro Jahr durchmachen. Zu erwähnen ist auch der hohe Anteil von Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen unbekannter Ätiologie. So wurden zum Beispiel während der Jahre 1981/82 in den Niederlanden 208 hinsichtlich ihrer Ursachen bekannte Ausbrüche registriert. Dem standen aber 526 ätiologisch nicht geklärte Ausbrüche gegenüber (die hier genannten Zahlen beinhalten auch Erkrankungen auslösende Agentien nicht mikrobieller Art; BECKERS, 1988).

Als Salmonellosen werden klinische Erkrankungen von Mensch und Tier, die durch *Salmonella*-Bakterien hervorgerufen werden, bezeichnet (PIETZSCH, 1981). Im Hinblick auf die klinischen Symptome, die Pathogenese und epidemiologische Aspekte lassen sich die Salmonellosen beim Menschen in zwei Gruppen unterteilen: 1. Typhus und Paratyphus, hervorgerufen durch *Salmonella* (*S.*) *typhi* und *S. paratyphi* A,B,C und 2. Infektionen mit gastrointestinalen Symptomen, hervorgerufen durch alle nicht den genannten Serovarietäten zugehörigen Salmonellen (LINTON, 1983), die häufig auch als "Enteritis-Salmonellen" bezeichnet werden (PIETZSCH, 1981).

Tabelle 12: Durch Lebensmittel übertragene Salmonellosen in verschiedenen Ländern

Jahr	Land	Anzahl der gesamten mikrobiell bedingten Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen		Anzahl der Salmonellosen		Autoren
		Ausbrüche	Fälle	Ausbrüche	Fälle	
1980 - 85	Schottland	1381	10075	1104(80%)*1)	6377(63%)*1)	SHARP et al., 1986
1980 - 84	England/Wales	2749	20217	2309(84%)	12208(60%)	MCCORMICK, 1986
1975 - 84	Finnland	632	12110	55(9%)	1798(15%)	HIRN und AHO, 1986
1983 - 85	BRD*2)	104	2879	42(40%)	1360(48%)	FOHN und GROSSMANN, 1986
1976 - 84	Spanien	501	24334	339(68%)	k.A.	PEREZ et al., 1986
1979 - 82	Niederlande	234	2550	54(23%)	1272(50%)	BECKERS, 1982; 1985; 1986; 1988
1982	USA	151	5501	55(36%)	2056(37%)	MCDONALD und GRIFFIN, 1986
1981 - 82	Kanada	287	5606	93(32%)	2430(43%)	TODD, 1988

Anmerkungen:1) Prozentueller Anteil der Salmonellosen an der Gesamtzahl der Ausbrüche bzw. Fälle
2) Auswahl, die etwa 2% der im Zeitraum den Überwachungsbehörden gemeldeten Fälle repräsentiert

Dementsprechend unterscheidet auch das Bundesseuchengesetz der BRD (Neufassung vom 18. Dez. 1979) zwischen diesen drei Erkrankungen. Die unter 2. beschriebene wird dort als Enteritis infectiosa bezeichnet, zu der allerdings auch andere, durch Mikroorganismen hervorgerufene Darmerkrankungen zu zählen sind (VELIMIROVIC, 1983). Während die als Enteritis infectiosa verlaufenden Salmonellosen eine ansteigende Tendenz aufweisen, blieb das Niveau der typhös verlaufenden Salmonellosen relativ konstant und lag den letzten Jahresberichten des zentralen Überwachungsprogramms für Salmonellosen des Bundesgesundheitsamtes zufolge in den Jahren 1978 bis Mitte 1982 unter 1% aller isolierten Salmonellenstämme (PÖHN, 1982; 1983). Die weiteren Ausführungen in der vorliegenden Arbeit beschränken sich im wesentlichen auf die Enteritis-Salmonellen.

2.2.2 Taxonomie und Bedeutung

Hinsichtlich der Taxonomie der Salmonellen herrschten lange unterschiedliche Auffassungen. Darstellungen hierzu finden sich bei PIETZSCH (1981), LE MINOR et al. (1982a, b), BRENNER (1984), FARMER et al. (1985) und EWING (1986). Bis 1973 wurden alle Vorschläge zur Klassifikation der Salmonella / Arizona-Gruppe ohne eine nähere Kenntnis ihrer entwicklungsgeschichtlichen Beziehungen gemacht (FARMER et al., 1985). Erst CROSA et al. (1973) und später LE MINOR et al. (1982a, b) konnten mit Hilfe von DNA-Untersuchungen und der Numerischen Taxonomie beweisen, daß alle Salmonella- und Arizona-Stämme letztlich einer Spezies zuzuordnen sind. Innerhalb dieser Spezies können sechs Subspezies unterschieden werden (siehe Tab. 13), die sich ihrerseits wieder aus den bisher beschriebenen Serovaren zusammensetzen. *S. typhimurium* wäre entsprechend den Vorschlägen von LE MINOR et al. (1982 a, b) als *S. choleraesuis* Subsp. *choleraesuis* Serovar *typhimurium* zu bezeichnen (BOCKEMÜHL und SEELIGER, 1985). Da diese Bezeichnung sehr umständlich ist, wird für praktische Zwecke mit einigen wenigen Ausnahmen die bisher übliche Benennung beibehalten. Diese Klassifikation wurde inzwischen auch von der Zentralstelle für veterinärmedizinische Salmonellose-Forschung des Bundesgesundheitsamtes Berlin übernommen (PIETZSCH, 1985).

Soweit heute bekannt, sind alle die sechs Subspezies repräsentierenden Serovaren für den Menschen pathogen. Allerdings ist nach FARMER et al. (1985) die Virulenz bei den Stämmen der Subspezies 1 am höchsten.

Tabelle 13: Klassifikation des Genus *Salmonella* nach LE MINOR et al. (1982a, b)
(BOCKEMÜHL und SEELIGER, 1985)

Taxon	vorgeschlagene Bezeichnung	Subspezies, Kurzbezeich.	frühere *1) Bezeichnung
Genus:	<i>Salmonella</i>		
Spezies:	<i>S. choleraesuis</i>		
Subspezies:	<i>S. choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i>	I	Subgenus I
	<i>S. choleraesuis</i> subsp. <i>salamae</i>	II	Subgenus II
	<i>S. choleraesuis</i> subsp. <i>arizonae</i>	IIIa	Subgenus III Arizona monophasisch
	<i>S. choleraesuis</i> subsp. <i>diarizonae</i>	IIIb	Subgenus III Arizona diphasisch
	<i>S. choleraesuis</i> subsp. <i>houtenae</i>	IV	Subgenus IV
	<i>S. choleraesuis</i> subsp. <i>bongori</i>	V	Subgenus V Bongor-Gruppe
Anmerkung: 1) Nach den Angaben in der 1. Ausgabe von Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Le MINOR, 1984)			

Von ganz wesentlicher Bedeutung für die Auslösung einer Salmonellose ist die infektiöse Dosis. Während man früher, den Ergebnissen von Versuchen mit "Freiwilligen" folgend, annahm, daß nur hohe Dosen an Salmonellen (10^5 - 10^6 und mehr) in der Lage sind, eine Erkrankung auszulösen (siehe hierzu die Zusammenstellung bei BLASER und NEWMAN, (1982), weiß man heute, nach Ausbrüchen unter anderem durch kontaminierte Heilmahrung (PIETZSCH, 1978), Schokolade (CRAVEN et al., 1975; GILL et al., 1983) und Cheddar Käse (FONTAINE et al., 1980; D'AOUST, 1985), daß grundsätzlich auch relativ niedrige Zahlen von Salmonellen infektiös sein können. Die Virulenz der jeweiligen Serovar, Alter, Gesundheits- und Ernährungszustand des Konsumenten, Magenfüllung und -funktion sowie das Lebensmittel, in dem der Erreger aufgenommen wird, spielen hierbei eine entscheidende Rolle (BLASER und NEWMAN, (1982).

2.2.3 Nachweis und Identifizierung

Da, wie oben ausgeführt, schon niedrige Zahlen an Salmonellen in einem Lebensmittel ausreichen können, beim Konsumenten eine Erkrankung auszulösen, müssen hohe Anforderungen an die Empfindlichkeit der Nachweisverfahren gestellt werden. Man ist sich heute darüber einig, daß eine kulturelle Untersuchung von Lebensmitteln auf Salmonellen im allgemeinen aus den Schritten: Voranreicherung (Resuszipitation/Wiederbelebung) in einem nicht selektiven Medium, Anreicherung in zwei verschiedenen selektiven Medien, Nachweis auf zwei verschiedenen festen Selektivmedien und Bestätigung verdächtiger Isolate und Identifizierung mittels serologischer und biochemischer Verfahren bestehen sollte. Zweigleisig zu arbeiten ist deshalb notwendig, weil einzelne Salmonellenserovaren gegen die selektiven Komponenten der Nährböden empfindlich sein können (BANWART und AYRES, 1953; MONTFORD und THATCHER, 1961; CHAU und LEUNG, 1978). Wegen des hohen Arbeits- und Zeitaufwandes hat man schon seit langem versucht, die kulturellen Verfahren zu rationalisieren bzw. neue Methoden für die Salmonellendiagnostik nutzbar zu machen. In diesem Zusammenhang sind vor allem die Techniken mit fluoreszierenden Antikörpern (AYRES, 1967), die Anreicherungs-serologie (SPERBER und DEIBEL, 1969), enzymimmunologische (KRYSSINSKI und HEIMSCH, 1977) und molekularbiologische Verfahren (FITTS et al., 1983) zu nennen. Als weitere Möglichkeit werden im Schrifttum "selective motility systems" (JONES und HANDLEY, 1945), die Zugabe der Selektivsubstanz nach der Wiederbelebung direkt zum Voranreicherungsmedium (SVEUM und HARTMAN, 1977), der Staphylokokken-Koagulationstest (SANBORN et al., 1980) und die Leitfähigkeitsmessung (EASTER und GIBSON, 1985) genannt. Übersichten finden sich bei D'AOUST (1984), FITTS (1985), FLOWERS (1985), IBRAHIM und FLEET (1985), MATTINGLY et al. (1985) und SWAMINATHAN et al. (1985).

Trotz der Entwicklung zahlreicher alternativer Verfahren hat der konventionelle kulturelle Nachweis in der Routineuntersuchung von Lebensmitteln immer noch die größte Bedeutung. Auch über die hier verwendeten Methoden und Medien gibt es einige Übersichtsarbeiten (McCOY, 1962; LITCHFIELD, 1973; FAGERBERG und EVANS, 1976; HARVEY und PRICE, 1979; D'AOUST, 1981; MOATS, 1981; FRICKER, 1987), so daß sich die vorliegende Darstellung auf einige Aspekte des Nachweises von Salmonellen in Milch beschränken kann.

Wenn Salmonellen in einem Lebensmittel bei dessen Herstellung und Lagerung ungünstigen Faktoren wie Erhitzung, Säuerung, Trocknung etc. ausgesetzt sind, werden sie im allgemeinen subletal geschädigt (BUSTA, 1976; MOSSEL und CORRY, 1977; RAY 1979; HURST, 1980). Dies hat für die Untersuchung die Konsequenz, daß die Keime gegen selektive Komponenten der Nach-

weismedien, die sie in vitalem Zustand tolerieren, empfindlich werden und nicht mehr wachsen. Um dies zu verhindern wurde in den Untersuchungsgang die Wiederbelebung in einem nicht selektiven Medium aufgenommen. Zum Zweck der Voranreicherung sind verschiedene Minimal- und Maximalmedien empfohlen worden (eine Zusammenstellung findet sich bei BECKER, 1981), doch konnten sich letztlich nur zwei durchsetzen, nämlich die Lactose-Bouillon (NORTH, 1961) und das gepufferte Peptonwasser (Van SCHOTHORST und Van LEUSDEN, 1972). Vor allem bei der Untersuchung von Milchtrockenprodukten hat sich die Voranreicherung sehr bewährt (RAY et al., 1972; Van SCHOTHORST und Van LEUSDEN, 1972, 1975). In den auf nationaler Ebene (DIN 10181, Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG 01.00-13) in der BRD normierten Nachweisverfahren für Salmonellen ist auch bei der Untersuchung von Milch eine Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser vorgesehen. Es wird davon ausgegangen, daß bei einem solchen Schritt, neben der im Fall von Rohmilch wahrscheinlich nicht bedeutsamen Wiederbelebung, die Vermehrung eventuell vorhandener kleiner Zahlen an Salmonellen und die Verdünnung möglicherweise im Probenmaterial vorhandener, enthaltener inhibitorischer Substanzen von Vorteil ist. Außerdem ist schon seit längerem bekannt, daß Inhaltsstoffe des Probenmaterials auf die selektive Wirkung der Anreicherungsmedien einen ungünstigen Einfluß haben können (HURLEY und AYRES, 1953; SILLIKER und TAYLOR, 1958). Dieser Effekt wird durch die Verdünnung mit dem Voranreicherungsmedium ebenfalls gemildert. Auf internationaler Ebene ist in der ISO-Norm 6785 und im Standard 93A:1985 des Internationalen Milchwirtschaftsverbandes für Milch keine Voranreicherung vorgesehen, während die ICMSF (1978), den Untersuchungsergebnissen von EDEL und KAMPELMACHER (1973) folgend, grundsätzlich auch bei der Untersuchung von Rohmaterialien eine Voranreicherung empfiehlt. Im Schrifttum konnten nur zwei Berichte gefunden werden, die sich speziell mit dem Problem der Voranreicherung bei der Untersuchung von Milch auf Salmonellen beschäftigen. SCHÜPPEL und JANETSCHKE (1984) kamen zu dem Resultat, daß eine Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser keine Vorteile gegenüber der direkten Anreicherung in Selektivnährböden erbrachte. Wenn die Kontamination mit Salmonellen niedrig war und eine Begleitflora vorlag, wurde bei Einschalten der Voranreicherung der Nachweis sogar erschwert. WILSON et al. (1988) erzielten zwar gleich gute Ergebnisse mit Laktose-Bouillon und gepuffertem Peptonwasser bei der Anreicherung von Magermilch, im Fettgehalt reduzierter Milch, Vollmilch und Buttermilch, prüften allerdings nicht die direkte Anreicherung in einem Selektivnährboden.

Für die selektive Anreicherung wurden im allgemeinen tetrathionat- oder selenithaltige Medien verwendet. Von den zahlreichen Modifikationen (siehe die oben angegebenen Übersichten) haben sich bei der Untersuchung von Milch und Milchprodukten in den genannten nationalen und internationalen

Verfahren die Tetrathionat-Bouillon nach Muller-Kauffmann (Muller, 1923; KAUFFMANN, 1930, 1935) original oder modifiziert und die Selenit-Cystin-Bouillon (NORTH und BARTRAM, 1953) durchgesetzt. In neuerer Zeit häufen sich Berichte, die auf eine Überlegenheit des Rappaport-Vassiliadis-Mediums im Vergleich zu den Tetrathionat/Selenit-Nährböden bei der Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen (HARVEY und PRICE, 1981; KALAPOTHAKI et al., 1983; VASSILIADIS, 1983; TONGPIM et al., 1984; JONAS et al., 1986; MUNOZ et al., 1987), verschiedenen Milchtrockenprodukten (NORTHOLT et al., 1985), Umweltproben (Van SCHOTHORST und RENAUD, 1983) und Wasser (HARVEY et al., 1979) hindeuten. Diese Anreicherungs-bouillon wurde 1956 von RAPPAPORT et al. entwickelt und basiert in ihrer selektiven Wirkung auf einer Kombination aus Malachitgrün, einem relativ hohen osmotischen Druck durch Magnesiumchlorid, einem niedrigen pH-Wert und einem geringen Nährstoffangebot. Als wesentliche Modifikationen der ursprünglichen Zusammensetzung sind die von VASSILIADIS et al. (1976) reduzierte Malachitgrünkonzentration und die Anhebung der Bebrütungstemperatur auf 43°C sowie der von Van SCHOTHORST und RENAUD (1983) empfohlene Ersatz des Tryptons durch Sojapepton anzusehen. Neben den höheren Isolierungsraten ist als Vorteil des Rappaport-Mediums die geringe Inokulationsmenge aus der Voranreicherung (0,1 ml zu 10 ml des Nährbodens) anzusehen, da eine Minderung der Selektivität durch Probeninhaltsstoffe minimiert wird (siehe Abschnitt Voranreicherung). Außerdem wird durch die Möglichkeit der Abfüllung und der Bebrütung in Röhrchen erheblicher Brutschrankraum gespart. Im Schrifttum fand sich nur ein Bericht zur Effizienz des Rappaport-Vassiliadis-Mediums bei der Untersuchung von verschiedenen Milchsorten auf Salmonellen. Die Autoren (WILSON et al., 1988) konnten keine Überlegenheit des Rappaport-Vassiliadis-Mediums gegenüber Tetrathionat-Bouillon oder Selenit-Cystin-Bouillon registrieren.

Nach der selektiven Anreicherung erfolgt der Nachweis der Salmonellen auf festen Selektivnährböden. Die meisten dieser Medien beruhen hinsichtlich ihrer elektiven Eigenschaften auf dem Anzeigen des fehlenden Laktose-, evtl. auch Saccharosefermentationsvermögens der meisten Salmonellastämme, sieht man ab von der ohnehin mehrheitlich laktosespaltenden Arizonagruppe (Subspezies 3a, b). Nach EWING (1986) sind 0,3% aller Serovaren der Subspezies 1 allerdings ebenfalls laktosepositiv. Besonders hoch soll der Anteil derartiger Varianten in Milchtrockenprodukten sein. So fanden BLACKBURN und ELLIS (1973) unter 552 aus den Erzeugnissen und Produktionsanlagen isolierten Salmonellen 86 (15,6%) laktosepositive Stämme der Serovarietäten *S. anatum*, *S. tennessee* und *S. newington*. In der BRD wurde inzwischen eine laktosepositive Variante von *S. agona* ebenfalls in Milchtrockenprodukten gefunden (BECKER, 1988, pers. Mitteilung). Die praktische Bedeutung laktosepositiver Salmonellen ist darin zu sehen, daß sie mit den oben beschriebenen herkömmlichen festen Nährböden auf der Basis eines Zucker/pH-Wert-Indikator-Systems nicht erfaßt

werden, da sich die Kolonien ähnlich wie die coliformer Keime darstellen. Dementsprechend wird in der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG 01.00-13 und in DIN 10181 darauf hingewiesen, daß zum Nachweis laktosepositiver Salmonellen der Einsatz des Wismut-Sulfit- (WILSON und BLAIR, 1927; WILSON, 1938) bzw. des Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agars (XLD-Agar; TAYLOR, 1965) empfehlenswert ist. Neben diesen, nicht auf der Fähigkeit zur Laktosefermentation beruhenden Nährböden, wurde inzwischen ein weiteres Medium entwickelt, auf dem auch hinsichtlich der Zuckervergärung atypische Varianten erkannt werden können. Dieser als MLCB-Agar (Mannit-Lysin-Kristallviolett-Brilliantgrün-Agar) bezeichnete Agar wurde zwar bereits 1968 von INOUE in Japan vorgestellt, aber erst in den letzten Jahren durch PIETZSCH und TAN (1987) und Van SCHOTHORST et al. (1987) auch in Europa bekanntgemacht. Beide Arbeitsgruppen konnten mit dem Nährboden in Kombination mit der Rappaport-Vassiliadis-Anreicherung gute Resultate erzielen.

2.2.4 Epidemiologie und milchhygienische Bedeutung

Die Enteritissalmonellen sind ubiquitär. Sie bewohnen natürlicherweise den Darmtrakt von Warm- und Kaltblütern (BRYAN et al., 1979). Unter letzteren spielen die Reptilien als Salmonellenüberträger eine besondere Rolle, da sie nach einmaliger Aufnahme lebenslange Ausscheider bleiben, ohne selbst zu erkranken, und gleichzeitig ein breites Spektrum von Serovaren beherbergen (MÜLLER, 1979). Die Verbreitung der Keime erfolgt in erster Linie durch fäkale Kontamination von Futter- und Lebensmitteln sowie Trink- und Abwasser (MÜLLER, 1979). Als Ansteckungsquelle für den Menschen gelten dabei Lebensmittel tierischen Ursprungs (MOSSSEL und CORRY, 1977; SILLIKER, 1980), darunter auch Milch. Drei wichtige Faktoren, die das Wachstum und das Überleben von Salmonellen in Milch beeinflussen, sind Temperatur, pH-Wert und die Begleitflora. Salmonellen haben ihr Wachstumsoptimum bei 37°C, können sich aber auch im Bereich von 5 bis 47°C vermehren (LITCHFIELD, 1973). Die Temperatur-Zeit-Kombination der Pasteurisierung von Milch überleben sie im allgemeinen nicht (STREICHAN, 1967). Der für das Salmonellenwachstum optimale pH-Wert liegt zwischen 6,5-7,5 (CHUNG und GOEPFERT, 1970). Als Grenzbereiche sind etwa Werte von 4,0 und 9,0 anzunehmen (BRYAN et al., 1979). Dabei bestehen Abhängigkeiten vor allem von der Temperatur, der Sauerstoffspannung und der Initialkeimzahl (CHUNG und GOEPFERT, 1970; LANG, 1972). Antagonistische Einflüsse der Begleitflora basieren zum einen auf der Produktion inhibitorisch wirksamer Prinzipien, z. B. durch bestimmte Enterobacteriaceae, vor allem aber auf Milieuveränderungen durch die Stoffwechselaktivität der Säuerungsflora (LITCHFIELD, 1973).

Die Bedeutung von Milch und Milchprodukten für die Entstehung menschlicher Salmonellosen ist im allgemeinen gering. Dies wird auf die Milcherhitzung, die verbesserten hygienisch-technologischen Bedingungen der Gewinnung, Be- und Verarbeitung sowie die weitgehend geschlossene Kühlkette zurückgeführt. (BECKER und TERPLAN, 1986). Allerdings können, wie einer der größten bisher registrierten Ausbrüche in den USA im Jahre 1985 gezeigt hat, auch diese Maßnahmen keinen endgültigen Schutz bieten. Bei dem genannten Ausbruch erkrankten über 16 000 Personen in mehreren Staaten nach dem Genuß pasteurisierter und wahrscheinlich rekontaminierter Milch an Salmonellose (LECOS, 1986). Die epidemiologischen Zusammenhänge konnten bis heute nicht geklärt werden.

Insgesamt gesehen spielt allerdings Milch als Vektor für Salmonellen nur noch in den Ländern eine Rolle, in denen Rohmilch verzehrt bzw. verarbeitet wird (SHARP et al., 1980). Einige Beispiele können dies verdeutlichen: In Schottland wurde während der Jahre 1970 bis 1979 zwischen 18 und 10% der Milch als Rohmilch verkauft. In diesem Zeitraum kam es zu 29 auf Milchgenuß zurückgeführte Salmonellose-Ausbrüche mit mehr als 2420 gemeldeten Krankheitsfällen. Auf 100 000 Einwohner bezogen, erkrankten somit in Schottland 47,6 Menschen, wobei je Ausbruch 83,6 Personen betroffen waren, während in England und Wales im gleichen Zeitraum 1,9 Menschen/100 000 Einwohner erkrankten, im Durchschnitt 13,6 pro Ausbruch. Als Grund für diese Differenz wird der Umstand angesehen, daß in England und Wales der Rohmilchgenuß bei 3,1% lag, in Schottland jedoch bei 9,7%, und daß die schottischen Milchviehherden durchschnittlich um die Hälfte größer sind und somit 3,5 mal mehr Verbraucher von einem Erzeuger versorgt werden (SHARP et al., 1980). Nachdem es in Schottland von 1980 bis 1982 zu 21 weiteren milchbedingten Ausbrüchen mit über 1000 Erkrankten und acht Toten gekommen war, zog man dort im August 1983 die Konsequenz: Für Trinkmilch wurde eine Erhitzung vorgeschrieben, mit dem Erfolg, daß 1983 nur noch 4 Ausbrüche mit 21 Betroffenen und im ersten Halbjahr 1984 überhaupt keine auf den Genuß von Milch zurückzuführenden Erkrankungen mehr auftraten (WHO, 1984; BRANDL, 1985). Auch aus anderen Ländern werden auf Rohmilchkonsum zurückzuführende menschliche Salmonelleninfektionen gemeldet. So erkrankten in Australien im Jahre 1977 bei einem Ausbruch mehr als 500 Menschen, die unpasteurisierte, mit Salmonellen kontaminierte Milch getrunken hatten (SEGLENIEKS und DIXON, 1977). In den USA registrierte man nach BRYAN (1983) im Zeitraum von 1965 bis 1981 zwölf Ausbrüche von Salmonellose nach Milchgenuß, wobei es sich in den meisten Fällen um "Certified raw milk" (entspricht unserer Vorzugsmilch) oder andere Rohmilch handelte (siehe Tab. 14).

Tabelle 14: Milchbedingte Salmonelloseausbrüche in den USA
von 1965 - 1981 (nach BRYAN, 1983)

Jahr	Produkt	Staat	Erkrankungs- fälle	Serovar
1965	Rohmilch	Washington	2	<i>S. typhimurium</i>
1967	Rohmilch	Washington	40	<i>S. typhimurium</i>
1971 - 75	"certified raw milk"	California	44	<i>S. dublin</i>
1975	past. Milch	Louisiana	43	<i>S. newport</i>
1977	Rohmilch	Kentucky	3	<i>S. typhimurium</i>
1977 - 78	"certified raw milk"	California	5	<i>S. dublin</i>
1978	past. Milch	Arizona	23	<i>S. typhimurium</i>
1980	Rohmilch	Montana	105	<i>S. typhimurium</i>
1980 - 81	Rohmilch	Washington	125	<i>S. dublin</i>
1981	"certified raw milk"	California	1	<i>S. saint paul</i>
1981	Rohmilch	Montana	59	<i>S. typhimurium</i>
1981	Rohmilch	Washington	14	<i>S. dublin</i>

Die Wirksamkeit einer Wärmebehandlung der Milch zur Vermeidung von Salmonelloseausbrüchen hat sich auch in den Niederlanden gezeigt, wo seit 1945 98% der Milch einer Pasteurisierung unterzogen werden. Hier sind seither keine auf dieses Lebensmittel zurückzuführenden Salmonellen mehr bekannt geworden (KAMPELMACHER, 1980). Über die Situation in der BRD hinsichtlich einer Belastung von Rohmilch mit Salmonellen finden sich einige Angaben bei BECKER und TERPLAN (1986). Demnach kam es in den Jahren 1975 und 1976 zu drei Ausbrüchen mit insgesamt 79 Erkrankten, hervorgerufen durch die Serovarietäten *S. panama*, *S. agona* und *S. typhimurium* und im Jahre 1960 zu einem Typhusausbruch mit 80 Erkrankten durch kontaminierte Vorzugsmilch. Eine Zusammenstellung der bei der Zentralstelle für veterinärmedizinische Salmonellose-Forschung des Bundesgesundheitsamtes bzw. deren Vorgängern gemeldeten Isolierungen von Salmonellen aus Milch sowie Salmonellenfunde in Vorzugsmilch und bei Tieren aus Vorzugsmilchbetrieben finden sich in Tab. 15 und Tab. 17.

Für die Kontamination der Rohmilch mit Salmonellen bestehen vielfältige Möglichkeiten (siehe Tab. 16). Dabei wird unterschieden, ob die Kuh selbst die Erreger ausscheidet und diese direkt aus dem Euter oder indirekt über Kot, Harn und Genitalsekrete in die Milch gelangen, oder ob die Salmonellen aus der Umgebung der Kuh stammen. Was die direkte Erregerausscheidung mit der Milch betrifft, so beschreiben die

Tabelle 15: Meldungen bei der Zentralstelle für veterinärmedizinische Salmonellose-Forschung des Bundesgesundheitsamtes bzw. deren Vorgängern über Isolierungen von Salmonellen aus Milch (nach BECKER und TERPLAN, 1986)

Jahr	Zahl der Isolierungen aus Milch	Gesamtzahl der Isolierungen aus Lebensmitteln	Serovar
1953	keine Angaben	22*1)*2	<i>S. typhimurium</i>
1955	k.A.	47*1)*2)	<i>S. enteritidis</i>
1956	k.A.	53*1)	<i>S. braenderup</i>
			<i>S. kentucky</i>
1959	k.A.	38*1)	<i>S. enteritidis</i>
			<i>S. infantis</i>
1963	1		<i>S. fresno</i>
	1		<i>S. newington</i>
	1	1803	<i>S. paratyphi B</i>
	2		<i>S. typhimurium</i>
1964	1	1082	<i>S. anatum</i>
	1*3)		<i>S. cubana</i>
	1*3)		<i>S. manchester</i>
1965	1	254	<i>S. enteritidis</i>
1966	1	165	<i>S. manchester</i>
	1		<i>S. typhimurium</i>
1967	2	258	<i>S. dublin</i>
1968	1		<i>S. dublin</i>
	9	141	<i>S. enteritidis</i>
	1		<i>S. panama</i>
1969	1	k.A.	<i>S. agona</i>
1970	1	558	<i>S. dublin</i>
1971	3		<i>S. dublin</i>
	1	499	<i>S. enteritidis</i>
	6		<i>S. typhimurium</i>
1972	4	326	<i>S. paratyphi B</i>
1973	1	659	<i>S. dublin</i>
1974	6	561	<i>S. panama</i>
1977	1	1090	<i>S. typhimurium</i>
1981	1		<i>S. panama</i>
	1	k.A.	<i>S. tennessee</i>
Anmerkungen: 1) Erstisolierungen			
2) evtl. einzelne Isolierungen aus Futtermitteln mitenthalten			
3) evtl. Milchprodukte			

Tabelle 16: Möglichkeiten der Kontamination der Rohmilch mit Salmonellen

A. Kontamination durch Salmonellen ausscheidende Kühe
Primäre oder endogene Kontamination der Milch 1) Ausscheidung von Salmonellen über das Euter im akuten Stadium der Salmonellose (LEHR, 1927; GIBSON, 1965; MACLACHLAN, 1974; WRAY und SOJKA, 1977) 2) Salmonellenausscheidung über das Euter bei klinisch gesund erscheinenden Dauerausscheidern (RASCH, 1957; ROEMMELE, 1959) 3) Salmonellenmastitis: Ausscheidung von Salmonellen bei klinisch inapparenten (DAVIES und VENN, 1962; WEIGT et al., 1972) und bei akuten Salmonellenmastitiden (ZWICK und WEICHEL, 1910; RUDOLF, 1928; LÜTJE, 1955; SCHÖNBERG, 1956)
Sekundäre oder exogene Kontamination der Milch 1) Über Kotpartikel (KLEIN, 1957; HARMS, 1959; BUSS und LANG, 1960; WEIGT et al., 1972) 2) Über Harn (LEHR, 1927; BULLING und PIETZSCH, 1966) 3) Über Ausscheidungen aus dem Genitaltrakt oder die Nachgeburt (RASCH, 1957; GIBSON, 1965)
B. Kontamination aus der Umgebung der Milchkühe
1) Über die kontaminierte Euteroberfläche gesunder Nachbarkühe von Salmonellenausscheidern, besonders beim Handmelken (HARMS, 1959) 2) Über kontaminierte Melkgerätschaften (WRAY und SOJKA, 1977) 3) Über verunreinigtes Wasser, das verwendet wird a) zum Spülen der Melkgeräte (WRAY und SOJKA, 1977) b) zum Abwaschen der Euter (WRAY und SOJKA, 1977) 4) Über ans Weidegebiet grenzende, salmonellenkontaminierte Gewässer (GEORGE et al., 1972; WRAY und SOJKA, 1977) 5) Über Ungeziefer und andere Tiere im Erzeugerbetrieb (LANG, 1961; SEELIGER, 1972) 6) Über den Menschen, z.B. Ausscheider (SENS, 1957; LANG, 1972; 1973; STREICHAN, 1980)

Tabelle 17: Salmonellenfunde bei Rindern aus Vorzugsmilchbetrieben und in Vorzugsmilch (nach BECKER und TERPLAN, 1986)

Zahl der Salm.-positiven Tiere	Serovar	Jahr der Veröffentlichung	Autoren
1	<i>S. typhimurium</i>	1957	RASCH (1957)
1	<i>S. manhattan</i>	1957	KLEIN (1957)
1	<i>S. dublin</i>	1959	WALZBERG und BERGFELD (1959)
?	?	1959	ROEMMELE (1959)
2	<i>S. dublin</i>	1959	BUSS und LANG (1960)
3	<i>S. manchester</i>	1961	POPPE (1961)
Zahl der Milchproben			
4	<i>S. dublin</i>	1959	WALZBERG und BERGFELD (1959)
1	<i>S. typhimurium</i>		

wenigen Berichte, die über Salmonellenmastitiden vorliegen, sowohl klinisch inapparente und milde chronische Verlaufsformen, als auch schwere Mastitiden mit gangränösen und nekrotisierenden Euterveränderungen und deutlichen klinischen Erscheinungen (ZWICK und WEICHEL, 1910; RUDOLF, 1928; DAVIES und VENN, 1962; WEIGT et al., 1972). Im Schrifttum wird die Meinung vertreten, daß die Ausscheidung von Salmonellen mit der Milch vorwiegend während des akuten Stadiums einer Salmonellose erfolgt (LEHR, 1927; GIBSON, 1965; MACLACHLAN, 1974). Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß die bei akuter Salmonellose auftretende Enteritis mit massiver Erregerausscheidung über den Kot einhergeht und so durch fäkale Kontamination der Milch eine Salmonelleninfektion des Euters vorgetäuscht werden kann (WEIGT et al., 1972). Diese These wird bestätigt durch die Untersuchungen von HARMS (1959). Nach diesen Ausführungen wurden von zwei im Staatlichen Veterinäruntersuchungsamt Hannover aufgestellten, als Dauerausscheider bekannten Kühe insgesamt 51 Milchproben untersucht. Während bei 12 unter sterilen Kautelen entnommenen Milchproben ein Salmonellennachweis nicht gelang, wurden bei den übrigen 39 durch gewöhnliches Handmelken gewonnenen Milchproben in 14 Fällen Salmonellen gefunden.

Über die Häufigkeit der Kontamination von Rohmilch (von eutergesunden Kühen) und von Mastitismilch mit Salmonellen liegen nur wenige Daten vor. Meist werden entsprechende Erhebungen im Zusammenhang mit epidemiologischen Nachfolgeuntersuchungen durchgeführt. Bei der Untersuchung von Vor-

zugsmilch konnten WALZBERG und BERGFELD (1959) aus 22 500 Einzel- und Sammelproben in vier Fällen *S. dublin* und einmal *S. typhimurium* isolieren. Bei 12 017 untersuchten Mastitisproben wiesen DAVIES und VENN (1962) nur in einem Fall Salmonellen (*S. dublin*) nach, während RUDOLF (1928) in 535 untersuchten Mastitisproben fünfmal Salmonellen der Paratyphusgruppe fand.

Zwei *Salmonella*-Serovaren dominieren bei Salmonelloseausbrüchen nach Rohmilchgenuß. So waren nach den Untersuchungen von GALBRAIGHT et al. (1982) bei 132 rohmilchbedingten Ausbrüchen, die sich in England und Wales im Zeitraum von 1951 bis 1980 ereigneten, 88 mal *S. typhimurium* beteiligt, 14 mal *S. dublin* und 30 mal verschiedene andere Serovare. Die vorherrschende Rolle von *S. typhimurium* wird auch von TODD (1978) bestätigt. Hinsichtlich *S. dublin* weisen TAYLOR et al. (1982a) auf eine enge Korrelation zwischen dem Auftreten dieser Serovarität und dem Genuß von Rohmilch hin.

Auf die Möglichkeit der Rekontamination nach der Pasteurisierung wurde bereits hingewiesen. Hauptursachen für eine derartige Belastung waren Fehler bei der Pasteurisierung, menschliche Ausscheider, nicht geeignetes Brauchwasser und unzureichende Hygienemaßnahmen (BECKER und TERPLAN, 1986).

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methodik

3.1.1 Untersuchungsmaterial und Probennahme

In der Zeit von Februar 1986 bis Mai 1987 wurden am Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Aulendorf (STUA) verschiedene Milch- und Zentrifugenschlammproben auf die Anwesenheit von *Campylobacter jejuni/coli* und Salmonellen untersucht. Es handelte sich dabei um:

- a) Viertelgemelke, die aus umliegenden Milcherzeugerbetrieben stammten und aus Mastitis-verdächtigen Betrieben, in denen der Eutergesundheitsdienst Aulendorf zu diagnostischen Zwecken Proben nahm.
- b) Einzelgemelke, die von Tierärzten als monatliche Routineproben von Kühen aus Vorzugsmilchbetrieben zur Untersuchung in das STUA per Express geschickt wurden. Die Proben von (a) und (b) wurden ohne Desinfektion der Zitzenkuppe mit der Hand in sterile Fläschchen gemolken;
- c) Bestandsmilch, die morgens nach dem Melken mit einer hofeigenen Schöpfkelle direkt aus dem Milchtank in sterile Flaschen abgefüllt wurde;
- d) Tankwagenmilch von Tankwagen mit unterschiedlichen Erfassungsrouten;
- e) wärmebehandelte bzw. nicht wärmebehandelte Zentrifugenschlammproben aus verschiedenen Käsereien in Oberschwaben und dem württembergischen Allgäu.

Tabelle 18: Art und Zahl der auf *Campylobacter* spp. bzw. Salmonellen untersuchten Proben

Art der Probe	Auf <i>Campylobacter jej./coli</i> untersuchte Proben	Auf Salmonellen untersuchte Proben
Viertelgemelke	330	318
Einzelgemelke	67	67
Bestandsmilch	120	120
Tankwagenmilch	20	20
Zentrifugenschlamm	16	36

Insgesamt wurden 553 Proben auf *Campylobacter jejuni/coli* und 561 Proben auf Salmonellen untersucht (siehe Tab. 18). Von der Probennahme bis zum Beginn der Untersuchung vergingen im allgemeinen 2-6 h, höchstens jedoch 24 h. Die Proben wurden während dieser Zeit bei 4-8°C gelagert.

3.1.2 Nährböden und Reagenzien

Als Medien wurden, soweit möglich, Trockennährböden verwendet. Die Zubereitung erfolgte nach den Anweisungen des Herstellers. Zusammensetzung und Herkunft der verwendeten Nährböden und Reagenzien findet sich in Tab.4, Tab.5, Tab.19 und Tab.20.

Tabelle 19: Zusammensetzung und Herkunft der bei der Untersuchung auf *Campylobacter* spp. verwendeten Nährböden und Reagenzien

Anreicherungsmedium

Campylobacter-Selektiv-Anreicherungs-Bouillon (Preston)
Nährbouillon Nr. 2 (OXOID CM 62)
Campylobacter-Selektiv-Supplement (Preston) (OXOID SR 117)
Campylobacter-Anreicherungs-Supplement (OXOID SR 84)
Lysiertes Pferdeblut (OXOID FSR 1056)

Nachweismedien

Campylobacter-Selektiv-Nährboden nach Butzler:
Columbia-Blutagar-Basis (OXOID CM 331)
Campylobacter-Selektiv-Supplement (Butzler) (OXOID SR 85)
Lysiertes Rinderblut (am Städt. Schlachthof Ravensburg von Schlachttieren i.v. entnommen)
Campylobacter-Selektiv-Nährboden nach Blaser-Wang:
Columbia-Blutagar-Basis (OXOID CM 331)
Campylobacter-Selektiv-Supplement (Blaser-Wang) (OXOID SR 89)
Lysiertes Rinderblut (s.oben)
Campylobacter-Selektiv-Agar nach Preston:
Campylobacter-Agar-Basis (OXOID CM 689)
Campylobacter-Selektiv-Supplement (Preston) (OXOID SR 117)
Lysiertes Pferdeblut (OXOID FSR 1056)

Fortsetzung von Tabelle 19; siehe S. 34

Fortsetzung: Tabelle 19

Blutagar

(Zur Aufbewahrung von Isolaten sowie als Kulturmedium für die biochemische und serologische Differenzierung von Isolaten)

a) Herstellung des Basisnährbodens:

35 g Fleischextrakt (Merck 3979)

21 Hefeextrakt (Merck 3753)

21 g Natriumchlorid (Merck 6400)

14 g Dinatriumhydrogenphosphat (Merck 6580)

70 g Caseinpepton (Merck 7213)

120 g Agar-Agar (Merck 1614)

in 7,5 l Wasser ungefähr 1 h lang einweichen. Dann 15-20 min bei 110°C autoklavieren und in 500 ml Portionen abfüllen.

Auf ca. 50°C abkühlen lassen.

b) Herstellung der Citratlösung:

In 1000 ml Aqua dest.

5 g Zitronensäure (Merck 243)

13,7 g Natriumcitrat (Merck 6431)

24,5 g Glucose (Merck 8337)

auflösen, gut durchmischen.

c) Herstellung des Citratblutes:

Zu 100 ml Citratlösung (im Glaskolben) langsam

400 ml frisches Rinderblut zugeben.

d) Herstellung des fertigen Nährbodens:

500 ml Basisnährboden und

50 ml Citratblut

gut mischen, in Platten gießen.

Weitere Materialien

Gramfärbung: Grams Karbolgentianaviolettlösung (Merck 9216)

Lugol'sche Lösung (Merck 9261)

Ziehl-Neelsens Karbolfuchsinlösung (Merck 9215)

96% Alkohol

Katalasetest: H₂O -Lösung (30%ig) (Merck 8597) 1 ml

Aqua dest.

10 ml

Cytochromoxidasetest: Oxidase-Test (bioMerieux 7046)

L - Cystein (Merck 2838)

Anaerobiertopf (OXOID HP 11)

Katalysator (OXOID BR 42)

Gas Generating Kit (OXOID BR 56)

Tabelle 20: Zusammensetzung und Herkunft der bei der Untersuchung auf Salmonellen verwendeten Nährböden und Reagenzien

<u>Voranreicherungsmedium</u>	
Gepuffertes Peptonwasser (OXOID CM 509)	
Brillantgrünlösung: Brillantgrün (Merck 1310)	100 mg
Aqua dest.	100 ml
<u>Selektivanreicherungsmedien</u>	
Selenit-Nährboden:	
Selenit-Laktose-Bouillon-Basis (OXOID CM 395)	
Natriumbiselenit (OXOID L 121)	
Tetrathionat-Brillantgrün-Galle-Nährboden nach Muller-Kauffmann	
modifiziert:	
Tetrathionat-Bouillon-Basis (OXOID CM 343)	
Jod-Kaliumjodid-Lösung: Jod doppelt sublimiert (Merck 4761)	20 g
Kaliumjodid (Merck 5043)	25 g
Aqua dest.	100 ml
Brillantgrünlösung (siehe oben)	
Rappaport-Vassiliadis-Anreicherungs-Lösung (OXOID CM 669)	
<u>Nachweismedien</u>	
Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar,	
modifiziert (OXOID CM 329)	
Salmonella-Shigella-Agar, modifiziert (OXOID CM 533)	
Blutagar	
Siehe Tab. 19	
<u>Weitere Materialien</u>	
Gramfärbung: Siehe Tab. 19	
Cytochromoxidasetest: Siehe Tab. 19	
Salmonella-Testserum polyvalent I und II (Behringwerke ORMT 10/11,	
ORMU 10/11)	
API 20 E Enterobacteriaceae (bioMerieux 2010)	

3.1.3 Isolierung von *Campylobacter* spp.

3.1.3.1 Allgemeine Untersuchungen

Die ersten 250 Proben (230 Proben Viertelgemelke und 20 Proben Einzelgemelke) wurden über Direktausspatelung auf *Campylobacter*-Selektiv-Nährboden nach Butzler bzw. nach Blaser-Wang untersucht. Die folgenden 303 Proben (100 Viertelgemelke, 47 Einzelgemelke, 120 Bestandsmilchen, 20 Tankmilchen und 16 Zentrifugenschlämme) wurden jeweils über Direktausspatelung auf *Campylobacter*-Selektiv-Nährboden nach Butzler bzw. nach Preston sowie parallel über *Campylobacter*-Selektiv-Anreicherungs-Bouillon (Preston) mit anschließender Ausspatelung auf *Campylobacter*-Selektiv-Nährboden nach Butzler bzw. Preston kultiviert (siehe Abb. 1).

Dabei wurde wie folgt vorgegangen:

3.1.3.1.1 Direktausspatelung:

Jeweils 0,1 ml der Probe wurde mit einem Drygalskispatel auf den verschiedenen Nährböden verteilt. Die anschließende Bebrütung erfolgte in einem Anaerobiertopf mit Katalysator und einem Gas Generating Kit (reduziert den O₂-Gehalt auf etwa 5%) über 48 h bei 42°C.

3.1.3.1.2 Anreicherung:

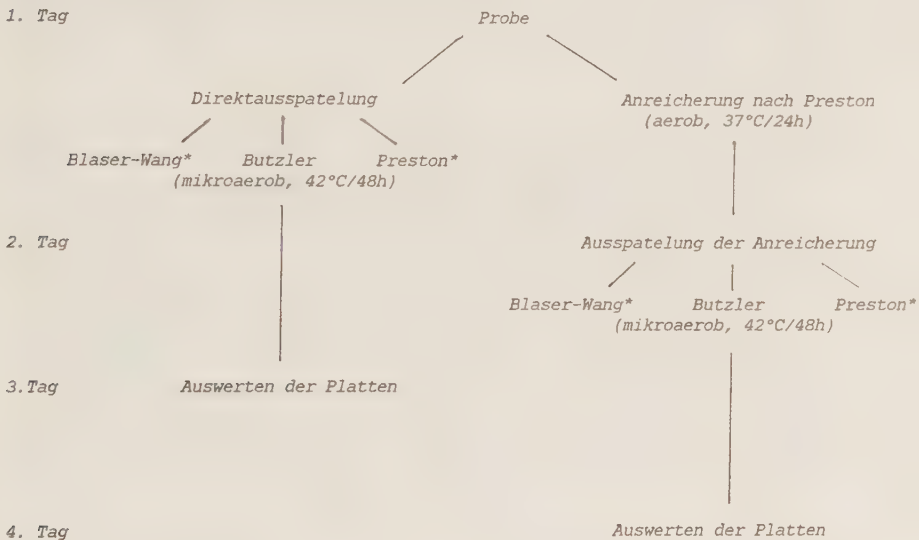
22,5 ml *Campylobacter*-Selektiv-Anreicherungs-Bouillon (Preston) wurden mit 2,5 ml Probenmaterial beschickt und 24 h bei 37°C bebrütet. 0,1 ml dieser Anreicherung wurde auf *Campylobacter*-Selektiv-Nährboden nach Butzler bzw. nach Preston ausgespatelt und mikroaerob 48 h bei 42°C bebrütet.

3.1.3.1.3 Auswertung:

Unmittelbar nach der Entnahme aus dem Anaerobiertopf wurden die Platten makroskopisch begutachtet. Glatte runde bis rasenartig auslaufende, stecknadelstich- bis stecknadelkopfgroße Kolonien oder auch schlecht abgrenzbare Rasenflächen, die sich durchsichtig glänzend bis grauweiß oder rötlichgrau darstellten, wurden nach Reinigung auf Blutagar als Nativpräparat im Phasenkontrastmikroskop bei 1000facher Vergrößerung weiter untersucht (Abb. 1). Als typisch für *Campylobacter* gelten S-förmige bis korkenzieherartige bewegliche Stäbchen. In älteren Kulturen können die Keime lange Spiral- oder auch kokkoide Formen annehmen. Die weitere Differenzierung erfolgt anhand des Gramverhaltens sowie des Katalase-, Oxidase- und Oxidativ-Fermentativ-Tests (Abb. 1). Parallel zu jeder neuen Untersuchungsreihe wurde eine positive Kontrolle angelegt.

(insgesamt 28). *C. jejuni*-Stämme wurden hierfür alle 4-6 Wochen aus dem Labor Gärtner/Weingarten bezogen; während dieser 4-6 Wochen wurden sie alle 3-5 Tage subkultiviert. Nach der Suspension von Koloniematerial in Milch (*Campylobacter*-freie Vorzugs- oder pasteurisierte Milch) wurde die Kontrollprobe etwa 1 h bei Zimmertemperatur stehengelassen und wie die übrigen Proben untersucht.

Abbildung 1: Untersuchung auf *Campylobacter* spp.



- 1) Makroskopisch: Beurteilung der Koloniemorphologie
- 2) Morphologie der Keime im Nativpräparat
- 3) Gramfärbung
- 4) Katalasetest
- 5) Cytochromoxidasetest
- 6) Oxidativ-Fermentativ-Test

Anmerkung: * nur bei einem Teil der Untersuchungen eingesetzt

3.1.3.2 Spezielle Untersuchungen

In zwei Fällen wurde die Untersuchung auf *Campylobacter* spp. nach Verdacht auf Lebensmittelinfektionen durchgeführt:

1. Das Labor Gärtner/Weingarten isolierte Anfang April 1986 aus einer Stuhlprobe eines zehnjährigen Kindes, das an Durchfall erkrankt war, *C. jejuni*. Laut Vorbericht sollte das Kind Rohmilch von einem benachbarten landwirtschaftlichen Betrieb getrunken haben. Der Bestand umfaßte drei Kühe und einige Hennen. Auf dem Anwesen lebten außerdem mehrere Katzen. Erkrankungen der Kühe, wie Euterentzündungen oder Durchfall, waren nicht aufgefallen. Andere Personen hatten von der gleichen Milch getrunken, ohne daß es bei ihnen zu Krankheiterscheinungen gekommen war. Am 7. April wurden von jeder Kuh Viertelgemelksproben genommen, gekühlt transportiert und ca. 1,5 h nach der Entnahme entsprechend dem in Abb.1 bzw. unter 3.1.3.1 skizzierten Schema (Direktausspatelung) untersucht.

2. Aus dem Stuhl von drei Personen, die an Durchfall und Erbrechen erkrankt waren, wurde im Juli 1986 *C. jejuni* isoliert. Die betroffenen Personen zählten zur Aufbaumannschaft eines Zeltlagers und hatten Wasser aus einer seit einem dreiviertel Jahr stillgelegten Leitung sowie Rohmilch von einem nahegelegenen Milcherzeugerbetrieb getrunken. Ein genauer Vorbericht konnte nicht erhoben werden. Von den zwei Tage später eintreffenden Personen erkrankte niemand. Etwa drei Wochen nach dem Ausbruch (die verdächtige Wasserleitung war inzwischen stillgelegt worden, so daß kein Untersuchungsmaterial mehr zur Verfügung stand) wurden die 29 Kühe (zwei davon trockenstehend) des Betriebes untersucht. Nach Auskunft des Besitzers hatte keines der Tiere eine erkennbare Euterentzündung. Von 27 Kühen wurde jeweils ein Einzelgemelk genommen, gekühlt transportiert und über Nacht bei 4-8°C gelagert. Die Untersuchung erfolgte entsprechend Abb.1 bzw. Abschnitt 3.1.3.1 (Direktausspatelung und Anreicherung).

3.1.3.3 Orientierende Untersuchung zum Einfluß des Laktoperoxidasesystems auf den Nachweis von *Campylobacter* spp.

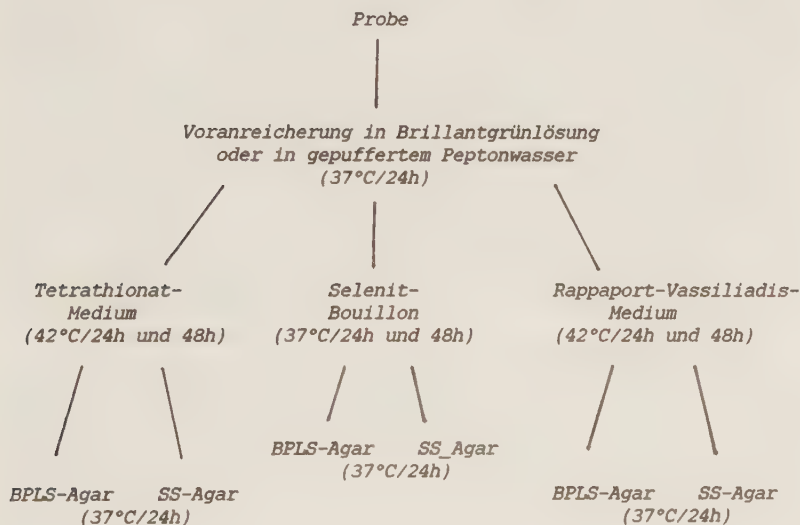
20 frische Vorzugsmilchproben à 4 ml wurden zur Ausschaltung des Laktoperoxidasesystems (BEUMER et al., 1985) mit Cystein versetzt (50 mmol/l = 24,32 mg pro 4 ml) und 20 Kontrollproben unbehandelt gelassen. Anschließend wurde in jeder Probe Koloniematerial von *C. jejuni* suspendiert, die Probe 1 h bei Zimmertemperatur inkubiert und bis zum nächsten Morgen im Kühlschrank aufbewahrt. Die weitere Untersuchung erfolgte entsprechend Abb. 1 bzw. 3.1.3.1 (nach Anreicherung Ausspateln auf *Campylobacter*-Selektiv-Nährboden nach Butzler bzw. Preston).

3.1.4 Isolierung von Salmonellen

Die Untersuchung der Proben auf Salmonellen erfolgte in Anlehnung an die Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG (Untersuchung von Lebensmitteln: Nachweis von Salmonellen in Milch. Referenzverfahren. L 01.00-13, November 1982).

Ein Schema des Untersuchungsganges findet sich in Abb. 2.

Abbildung 2: Untersuchung auf Salmonellen



serologische und biochemische Tests

Die Probemenge betrug bei Viertel- und Einzelgemelksproben 25 ml, bei Bestandsmilch- und Tankwagenproben 1000 ml und bei Zentrifugenschlamm 100 ml. Letzterer wies unterschiedliche Konsistenz auf und mußte zum Teil in Aqua dest. unter Verwendung eines mechanischen Schneidmischgerätes (Ultra-Turrax) homogenisiert werden. Die unveränderten bzw. verdünnten Zentrifugenschlammproben wurden in 900 ml Peptonwasser 18-24 h bei 37°C inkubiert. Den übrigen Proben wurde zur Unterdrückung der Säuerungsflora 0,1% Brillantgrünlösung (0,45 ml Brillantgrünlösung auf 25 ml Milch; POELMA et al., 1984) zugegeben und ebenfalls 18-24 h bei 37°C inkubiert. Jeweils 10 ml bzw. beim Rappaport-Medium 0,1 ml der Voranreicherung wurden in mindestens 2 verschiedene Selektivanreicherungsmedien verbracht. Als solche dienten bei 210 Proben je 100 ml Selenit-Bouillon, bei 371 Proben je 10 ml Rappaport-Vassiliadis-Medium und bei 561 Proben je 100 ml Tetrathionat-Medium. Diese Nährböden wurden 2 Tage bebrütet, die Selenitanreicherung bei 37°C, die Tetrathionat- und Rappaportanreicherung bei 42°C. Von jeder Selektivanreicherung wurde nach 18-24 h und nach 42-48 h je ein Verdünnungsausstrich auf Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar (BPLS-Agar) und auf Salmonella-Shigella-Agar (SS-Agar) angelegt und 18-24 h bei 37°C inkubiert. Typische Salmonella-Kolonien sind auf BPLS-Agar blaßrosa bis rosarot und von einem roten Hof umgeben (Alkalisierung durch fehlenden Laktoseabbau), ca. 1-2 mm groß, rund, glatt, glänzend und leicht transparent. Auf SS-Agar erscheinen die Kolonien von Salmonellen transparent bis elfenbeinfarben und weisen meist ein schwarzes Zentrum auf. Mit verdächtigen Kolonien wurde nach Reinigung auf Blutagar folgende Bestätigungsreaktionen durchgeführt.

1. Serologischer Nachweis mit polyvalenten Salmonella-Testseren
2. Gramfärbung
3. Cytochromoxidasetest
4. Biochemische Identifizierung

Mit jedem Untersuchungsgang wurde eine Positivkontrolle mitgeführt (insgesamt 28). Nach der Suspension von Koloniematerial von *S. typhimurium* in Milch (Salmonellen-freie Vorzugs- oder pasteurisierte Milch) wurde die Kontrollprobe etwa 1 h bei Zimmertemperatur stehengelassen und wie die übrigen Proben untersucht.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Untersuchung auf *Campylobacter* spp.

3.2.1.1 Untersuchung von Milch und Zentrifugenschlamm

Aus den insgesamt 553 untersuchten Milch- und Zentrifugenschlammproben konnte nach Direktausspatelung in keinem Fall *Campylobacter* spp. isoliert werden. 303 dieser Proben wurden zusätzlich in *Campylobacter*-Selektiv-Anreicherungs-Bouillon (Preston) inkubiert und dann ausgespatelt. Die Ausspatelungen dieser Proben waren ebenfalls negativ. Unter den 537 Milchproben waren auch 12 Viertelgemelks- und 27 Einzelgemelksproben aus zwei Betrieben, für die der Verdacht geäußert worden war, daß die Milchkühe *Campylobacter* spp. ausschieden. Auch in diesen Proben ließen sich die Erreger nicht nachweisen.

Tabelle 21: Vorkommen von *Campylobacter jejuni/coli* in verschiedenen Milchproben und Zentrifugenschlamm

Material	Anzahl der untersuchten Proben	Ergebnis
Viertelgemelke	330	neg.
Einzelgemelke	67	neg.
Bestandsmilch	120	neg.
Tankwagenmilch	20	neg.
Zentrifugenschlamm	16	neg.

Die 16 Proben Zentrifugenschlamm erwiesen sich sowohl bei der Direktausspatelung als auch nach Voranreicherung in der Mehrzahl der Fälle (35 von 64 Platten) als nicht auswertbar, da die Nährböden durch die Begleitflora stark überwachsen waren (bei einer Probe waren es alle vier ausgespatelten Platten). Auf den 29 nicht überwachsenen Nährbodenplatten konnten keine *Campylobacter* spp. nachgewiesen werden.

3.2.1.2 Versuche zum Einfluß des Laktoperoxidasesystems auf den Nachweis von *Campylobacter* spp.

Zwischen den Proben mit Cystein- und denen ohne Cysteinzusatz konnten hinsichtlich des Nachweises von *C. jejuni* keine wesentlichen Unterschiede registriert werden.

3.2.2 Untersuchung der Proben auf Salmonellen

Aus keiner der 318 Viertelgemelksproben, 67 Einzelgemelksproben, 120 Bestandmilchproben und 20 Tankwagenmilchproben konnten Salmonellen isoliert werden.

Tabelle 22: Vorkommen von Salmonellen in verschiedenen Milchproben und Zentrifugenschlamm

Material	Anzahl der untersuchten Proben	Ergebnis
Viertelgemelke	318	neg.
Einzelgemelke	67	neg.
Bestandmilch	120	neg.
Tankwagenmilch	20	neg.
Zentrifugenschlamm	36	1 Probe pos.

Bei der Untersuchung von 36 Zentrifugenschlämmen aus verschiedenen Käsereien ließen sich nur in einem Fall Salmonellen nachweisen. Diese Probe war ausschließlich nach dem Ausstrich auf Tetrathionat-Medium positiv, und zwar sowohl auf Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar als auch auf *Salmonella-Shigella*-Agar. Das Isolat wurde als *Salmonella typhimurium* identifiziert.

4. Besprechung der Ergebnisse und Diskussion

Unter den Erregern von Durchfallerkrankungen haben *Salmonellen* und *Campylobacter* spp. weltweit erhebliche Bedeutung (SKIRROW, 1977 und 1982; BRYAN, 1983). Die möglichen Infektionsquellen sind vielfältig. Unter anderem kommen Haustiere (BLASER et al., 1978; BRYAN et al., 1979; BROUWER et al., 1979; ROBINSON et al., 1979; SKIRROW und BENJAMIN, 1980b), Vögel (SMIBERT, 1969), Zoo- und Wildtiere (GLOUCESTER, 1979; MÜLLER, 1979, LUECHTEFELD et al., 1981), Wasser (SMIBERT, 1969; MENTZING, 1981; ROLLINS und COLWELL, 1986) und der Mensch (BUTZLER und SKIRROW, 1979) in Betracht. Für Gruppen- und Massenerkrankungen sind insbesondere Lebensmittel tierischen Ursprungs verantwortlich gewesen (MOSEL und CORRY, 1977; MORRIS und PATTON, 1985). Von diesen spielen in erster Linie unzureichend hitzebehandelte und rohe Fleisch- sowie Geflügelprodukte (PARK et al., 1981; SILLIKER, 1980; TURNBULL und ROSE, 1982), in geringerem Maße auch Rohmilch oder fehlerhaft pasteurisierte Milch eine Rolle. Durch *S. typhi* und *S. paratyphi* in Rohmilch bedingte Ausbrüche waren früher sehr zahlreich (BRYAN, 1983). In den letzten Jahren ist es durch Rohmilch bzw. fehlerhaft pasteurisierte Milch zu einigen großen Krankheitsausbrüchen gekommen, für die als Erreger *S. typhimurium* und *C. jejuni* verantwortlich gemacht wurden. Bei diesen Ausbrüchen erkrankten 1986 in Illinois mehr als 16000 Menschen nach dem Genuß von mit *S. typhimurium* kontaminierter Milch (LECOS, 1986). In Luton (Großbritannien) kam es durch offen ausgegebene Schulmilch, die *C. jejuni* enthielt, bei 2500 Kindern zu einer Infektion (JONES et al., 1981b) (siehe auch Tab. 8, S. 13; Tab. 12, S. 19 und Tab. 14, S. 27). Hinsichtlich der Belastung roher Milch mit den genannten Keimen stehen als Kontaminationsquelle die Kuh bzw. ihre Umgebung im Vordergrund (siehe Tab. 10, S. 15 und Tab. 16, S. 29). Dabei spielt wohl die fäkale Verunreinigung während des und nach dem Melken eine wesentliche Rolle. Eine Gefahr stellen in diesem Zusammenhang *Salmonellenausscheidende* Tiere dar (HARMS, 1959; ROEMMELE, 1959) sowie Rinder, die *C. jejuni* als normalen Darmkommensalen beherbergen (SKIRROW und BENJAMIN, 1980b). In welchem Maße Mastitiden am Infektionsgeschehen beteiligt sind, kann nicht genau gesagt werden, weil nur einige (teilweise widersprüchliche) Berichte vorliegen (RUDOLF, 1928; DAVIES und VENN, 1962; WEIGT et al., 1972; HUDSON et al., 1984; HUTCHINSON et al., 1985; MORGAN et al., 1985). Da bislang nur wenige Erhebungen über die natürliche Verbreitung von *Campylobacter* bzw. *Salmonellen* in Rohmilch vorliegen, sollte im Rahmen der vorliegenden Arbeit an Probenmaterial (Viertel- und Einzelgemelke, Bestands- und Tankwagenmilch sowie Zentrifugenschlamm) aus dem Bereich Oberschwaben geprüft werden, wie häufig mit dem Vorkommen dieser Keime zu rechnen ist.

Die Untersuchung auf *Campylobacter* ist bisher auf nationaler und internationaler Ebene noch nicht normiert worden. Es wurde daher ein von De BOER et al. (1984) verwendetes und als für den Nachweis von *Campylobacter* in Milch sehr empfindlich bezeichnetes Verfahren (Anreicherung in *Campylobacter*-Selektiv-Anreicherungs-Bouillon (Preston) und Ausstrich auf *Campylobacter*-Selektiv-Agar (Preston) unter Einbeziehung des Direktausstriches und weiterer fester Selektivmedien (*Campylobacter*-Selektiv-Nährboden nach Butzler, *Campylobacter*-Selektiv-Nährboden nach Blaser-Wang ; siehe Material und Methodik) eingesetzt.

Die Untersuchung auf *Salmonellen* wurde in Anlehnung an die Methodik der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG (Nachweis von *Salmonellen* in Milch, Referenzverfahren L01.00-13, November 1982) durchgeführt. Da im neueren Schrifttum nur sehr wenige Erfahrungen zur Nachweismethodik von *Salmonellen* in Milch vorliegen (SCHÜPPEL und JANETSCHKE, 1984; WILSON et al., 1988) und die erstgenannten Autoren feststellen mußten, daß die Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser bei einer geringen Kontamination mit *Salmonellen* und Vorliegen einer Begleitflora den Nachweis der Erreger erschweren kann, wurde einem Teil der Proben Brillantgrün zugesetzt und auf eine nicht selektive Voranreicherung verzichtet. Auf diese Weise konnten auch Proben größeren Umfangs (140) untersucht werden. Bei 371 Proben wurde das Medium nach Rappaport und Vassiliadis eingesetzt. Dieses soll nach den Untersuchungen von JONAS et al. (1986) und VASSILIADIS et al. (1981) für die Untersuchung von Lebensmitteln tierischer Herkunft sehr gut geeignet sein, obwohl WILSON et al. (1988) bei der Untersuchung von verschiedenen Milchsorten keine Vorteile dieses Mediums gegenüber Tetrathionat- oder Selenit-Cystin-Bouillon registrieren konnten.

4.1 Ergebnisse der Untersuchung auf *Campylobacter* spp.

In keiner der 397 Viertel- und Einzelgemelksproben von Kühen und auch in keiner der 140 Proben von Hof- und Tankwagenmilch konnte *Campylobacter* nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Befunden anderer Autoren aus verschiedenen Ländern. So konnten OOSTEROM et al. (1982) aus 400 in den Niederlanden untersuchten Tankmilchproben in keinem Fall *Campylobacter* spp. isolieren. Auch CHRISTOPHER et al. (1982), die 100 Tankmilchproben und 100 Einzelgemelke von Kühen in Texas untersuchten, berichteten nur von negativen Resultaten. Ebenfalls keine *Campylobacter* spp. konnten in der Schweiz BREER (1984) aus 760 Tankmilchproben und HUMPHREY und BECKETT (1987) aus 157 Tankmilchproben von 12 verschiedenen Farmen in Devon (Großbritannien) isolieren. Letztere befanden aller-

dings 9 von 111 Milchproben als positiv, nachdem sie für ihre Untersuchungen Kühe ausgewählt hatten, die *C. jejuni* mit dem Kot ausschieden. De BOER et al. (1984) registrierten unter 600 Kannenmilchproben einer niederländischen Molkerei keine positive Probe, ermittelte aber bei der Untersuchung von 1200 Tankmilchproben zwei positive Betriebe. DOYLE und ROMAN (1982a) gelang in einer von 108 Tankmilchproben der Nachweis von *C. jejuni*. Die höchste in der Literatur beschriebene Isolierungsrate bei Tankmilch (1,5%) erzielten LOVETT et al. (1983). Diese Autoren fanden bei der Untersuchung von 195 Proben in drei Fällen *C. jejuni*. Zum Nachweis benutzten sie zusätzlich ein 0,65 µm Membranfilter, durch das die Anreicherungs-lösungen gefiltert und anschließend auf ein festes Selektivmedium ausgestrichen wurden.

Obwohl Rohmilch als Vehikel für *Campylobacter* epidemiologische Bedeutung zu besitzen scheint, wie zahlreiche Ausbrüche belegen (siehe Tab. 8, S. 13) wird dennoch der Keim in der Milch nur selten gefunden. Dies gilt auch für die in Tab. 8 zusammengefaßten Erkrankungsfälle. Nach De BOER et al. (1984) hat dies vor allem zwei Gründe. Zum einen vergehen nach einem Ausbruch meistens 10 oder mehr Tage bis zur Untersuchung der verdächtigen Milch, wobei zu berücksichtigen ist, daß *Campylobacter* sich in Milch nicht vermehren und nur eine begrenzte Zeit überleben kann (siehe Tab. 9, S. 14). Zum anderen sind die Untersuchungsmethoden, die ursprünglich zur Isolierung von *C. jejuni/coli* aus menschlichem Stuhl entwickelt wurden, für die Untersuchung von Lebensmitteln nicht sensitiv genug. Dem steht allerdings entgegen, daß DOYLE und ROMAN (1982a) in 75% der Fälle mit dem von ihnen benützten Verfahren (siehe Tab. 5, S. 9) 0,1 Keim/ml Milch nachzuweisen vermochten. Möglicherweise ist die Kontamination der Milch mit *Campylobacter* auch nur kurzzeitig hoch, wie es beispielsweise bei einer Mastitis der Fall sein könnte (De BOER et al., 1984). Weder OOSTEROM (1982), ROSEF et al. (1983), De BOER et al. (1984) noch WATERMAN et al. (1984) waren jedoch in der Lage aus Mastitisproben von Kühen einen Keim dieser Spezies zu isolieren. Bei experimentellen Infektionen (LANDER und GILL, 1980; NEUMANN, 1985) betrug die Ausscheidungsdauer von *C. jejuni* aus dem Euter drei (LANDER und GILL, 1980) bis über 90 Tage (MORGAN et al., 1985). Die Zahl der ausgeschiedenen Keime war dabei sehr unterschiedlich.

Ein weiterer möglicher Grund, warum die Isolierungsrate von *C. jejuni* aus Milch so niedrig ist, wird in den Arbeiten von DOYLE und ROMAN (1982b) und BEUMER et al. (1985) beschrieben. Demnach scheint es durch das milcheigene Laktoperoxidasesystem zur Inaktivierung von *C. jejuni* zu kommen. So stellten BEUMER et al. (1985) fest, daß die Wahrscheinlichkeit *C. jejuni* nachzuweisen wesentlich höher ist, wenn das Laktoperoxidasesystem durch geeignete Maßnahmen, z.B. Cysteinzugabe, inaktiviert wird.

In den eigenen Untersuchungen, bei denen das Laktoperoxidase-system durch Zugabe von Cystein ausgeschaltet wurde, konnten die Ergebnisse von BEUMER et al. (1985) nicht bestätigt werden. Da im Rahmen der vorliegenden Arbeit allerdings nur einige orientierende Versuche durchgeführt wurden, empfiehlt es sich, an mehr Material und unterschiedlichen Campylobacterstämmen weitere Experimente vorzunehmen.

Ebenso wie die Erhebungen an Viertelgemelk-, Einzelgemelk-, Bestandsmilch- und Tankwagenproben verliefen auch die im Zusammenhang mit Erkrankungen durchgeführten Untersuchungen negativ. Ob die Gründe hierfür in den oben diskutierten Möglichkeiten zu sehen sind oder ob zwischen den Erkrankungen und der als verdächtig eingestuften Milch kein ätiologischer Zusammenhang bestand, konnte nicht geklärt werden.

Zur Untersuchung von Zentrifugenschlamm auf Campylobacter konnten im Schrifttum keine Angaben gefunden werden. Da das Zentrifugieren der Milch eine Grobreinigung unter anderem auch von Kotpartikelchen und eventuell darin befindlichen Erregern darstellt, erschien die Tatsache, daß trotz der mit dem Zentrifugieren verbundenen Anreicherung eventuell vorhandener Keime in keiner der 16 Proben Campylobacter nachzuweisen war, zunächst überraschend. Befragungen der Betriebe, aus denen die Proben stammten, ergaben allerdings, daß ein Teil des Materials (mind. 2 (ev. 4) Proben) hitzebehandelt worden war, was zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht bekannt war. Auch in diesem Zusammenhang sollten daher weitere Untersuchungen vorgenommen werden.

4.2 Ergebnisse der Untersuchung auf Salmonellen

Die Untersuchung von 385 Viertel- und Einzelgemelken sowie 140 Hof- und Tankwagenmilchproben auf Salmonellen verlief negativ. Dieses Ergebnis deckt sich mit einigen Berichten anderer Autoren. MURRAY (1966) konnte bei Tankmilchuntersuchungen in Nordirland ebenfalls nur negative Resultate registrieren. In lediglich einem Fall konnten RITCHIE und CLAYTON (1951) S. dublin isolieren, in allen anderen von diesen Autoren untersuchten 761 Tankmilchproben ließen sich keine Salmonellen nachweisen. Dagegen fand HARMS (1959), der in einem "Enteritisbestand" während eineinhalb Jahren 257 Milchproben untersuchte, siebenmal Salmonellen. Von zwei anderen Kühen die Dauerausscheider waren, nahm er innerhalb von zwei Monaten 51 Milchproben, darunter zwölf Proben steril. Aus letzteren konnte er keine Salmonellen isolieren, aus durch normales Handmelken gewonnene Proben jedoch 14 mal S. dublin. In 22500 routinemäßig untersuchten Viertel- und Einzelgemelken von Vorzugsmilchkühen während der Jahre 1953-1958 im Raum Weser-Ems konnten im Veterinäruntersuchungsamt Oldenburg viermal S. dublin und einmal S. typhimurium nachgewiesen wer-

den. Das entspricht einer Isolierungsrate von 0,02% (WALZBERG und BERGFELD, 1959). Allerdings weist eine Erhebung von VARELA und OLARTE (1952) darauf hin, daß die Belastung der Milch mit Salmonellen in Entwicklungsländern eventuell wesentlich häufiger war, als in Europa. Nach den Angaben dieser Autoren lag die Isolierungsrate bei der Untersuchung von 520 Proben "Mexican certified milk" bei 4,8%. Aus den 25 positiven Proben wurden 11 unterschiedliche Serovaren kultiviert. Ob die Verhältnisse in anderen Entwicklungsländern ähnlich waren oder noch sind, konnte aus Mangel an Untersuchungen im Schrifttum nicht geklärt werden.

Auch in der BRD liegen neuere Untersuchungen über die natürliche Verbreitung von Salmonellen in Rohmilch nicht vor. Dies ist wohl vor allem darauf zurückzuführen, daß Milch, die dazu bestimmt ist, als solche an den Verbraucher abgegeben zu werden, einem der zugelassenen Erhitzungsverfahren unterzogen werden muß. Die Milcherhitzung, verbunden mit den verbesserten hygienisch-technologischen Bedingungen der Gewinnung, Be- und Verarbeitung und der weitgehend geschlossenen Kühlkette scheint für die erheblich gesunkene Bedeutung der Milch als Vektor für Salmonellen verantwortlich zu sein (BECKER und TERPLAN, 1986). Dementsprechend ist auch das Interesse an derartigen Untersuchungen gesunken.

Die Tatsache, daß nur in einer Zentrifugenschlammprobe Salmonellen (*S. typhimurium*) gefunden wurde, deutet ebenfalls darauf hin, daß Anlieferungsmilch nur ausnahmsweise mit Salmonellen belastet ist. Hinsichtlich des Untersuchungsmaterials gelten allerdings die gleichen Einschränkungen, auf die bereits bei der Besprechung von *Campylobacter* (4.1) eingegangen wurde.

4.3 Anmerkungen zur Untersuchungsmethodik

Es wurde am Anfang des Kapitels bereits darauf hingewiesen, daß weder über die Effizienz der Methoden zum Nachweis von *Campylobacter*, noch über die zum Nachweis von Salmonellen in Rohmilch Klarheit herrscht. Bei einer Bewertung der mit einer Ausnahme (*S. typhimurium* in Zentrifugenschlamm) negativen Ergebnisse der eigenen Untersuchungen, aber auch der dem Schrifttum entnommenen Resultate, sollte dies stets berücksichtigt werden. Obwohl wegen fehlender positiver Befunde Rückschlüsse auf die Brauchbarkeit der eingesetzten Verfahren nur bedingt möglich sind, sollen doch hier zwei die Selektivität der Nährböden betreffende Beobachtungen erwähnt werden. So erbrachte bei den festen Selektivnährböden zur *Salmonella*-isolierung der Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Agar weniger falsch positive Ergebnisse als der *Salmonella*-Shigella-Agar. Von 13 mit dem API E-System ausgewerteten Kulturen, die aufgrund ihrer Koloniemorphologie und ihrer Agglutination durch

polyvalentes Antiserum zu Verwechslungen mit Salmonellen Anlaß gaben, stammten acht vom Salmonella-Shigella-Agar. Bei der Verwendung von Salmonella-Shigella-Agar ist daher mit einem höheren Arbeitsaufwand durch das Auftreten falschpositiver Resultate zu rechnen. Dies entspricht auch den Erfahrungen von ANDREWS et al. (1981). Wesentlich ungünstiger auf die Sicherheit der Ergebnisse könnte sich bei der Untersuchung von Zentrifugenschlamm auf Campylobacter spp. die in Anwesenheit einer umfangreichen Begleitflora geringe Selektivität des Campylobacter-Selektiv-Nährbodens nach Butzler bzw. nach Preston auswirken. Da nach 48 h Bebrütung mehr als die Hälfte der Platten vollständig von einer Mischflora überwachsen war, ist nicht auszuschließen, daß bei diesen Proben einzelne Campylobacterkolonien übersehen wurden.

5. Zusammenfassung

1. Die im Schrifttum zu Bedeutung und Vorkommen von *Campylobacter* und *Salmonellen* in Rohmilch vorliegende Literatur wurde eingehend referiert.

2. In den eigenen Untersuchungen wurden insgesamt 553 Milch- (Viertel- und Einzelgemelke, Bestandsmilch, Tankwagenmilch sowie Milch, die im Zusammenhang mit Erkrankungen stehen sollte) und Zentrifugenschlammproben auf die Anwesenheit von *Campylobacter* spp. untersucht. Hierbei wurde Probenmaterial entweder direkt oder nach Anreicherung in *Campylobacter*-Selektiv-Anreicherungsbouillon (Preston) (37°C) auf *Campylobacter*- Selektiv-Nährböden (Butzler, Blaser-Wang, Preston) ausgestrichen und unter mikroaeroben Bedingungen bei 42°C bebrütet. Sämtliche Untersuchungen verliefen negativ.

3. Außerdem wurden insgesamt 561 Milch- (Viertel- und Einzelgemelke, Bestandsmilch, Tankwagenmilch) und Zentrifugenschlammproben in Anlehnung an die Methode der Amtlichen Sammlung nach § 35 LMBG (L 01.00-13) unter Einbeziehung des Anreicherungsmediums nach Rappaport und Vassiliadis auf Anwesenheit von *Salmonellen* geprüft. Nur in einer Zentrifugenschlammprobe konnten *Salmonellen* (*S. typhimurium*) nachgewiesen werden.

Summary

Incidence of Campylobacter and Salmonella in raw milk.

1. The literature on importance and incidence of *Campylobacter* and *Salmonella* in raw milk is reviewed in detail.

2. A total of 553 milk samples (quarter-milk and composited quarter-milk samples, bulk milk, samples from milk receiving tankers and milk which was suggested to be associated with *Campylobacter enteritis*) and centrifuge sludge were examined for the presence of *Campylobacter*. *Campylobacter* selective agars (Butzler, Blaser-Wang, Preston) microaerobic conditions, 42 °C) were inoculated directly or after enrichment in *Campylobacter* selective enrichment broth (Preston) (37 °C), respectively, and incubated. *Campylobacter* was not recovered from the samples.

3. A total of 561 milk samples (quarter-milk and composited quarter-milk samples, bulk milk, samples from milk receiving tankers) and centrifuge sludge were examined for the presence of *Salmonella* following the methode recommended in the Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG (L 01.00-13) including enrichment in Rappaport-Vassiliadis medium. Only one sample of centrifuge sludge yielded *Salmonella* (*S. typhimurium*).

6. Literatur

- ABDUSSALAM, M. (1980):
Problems of foodborne diseases in developing countries
Fleischwirtsch. 60, 1151-1154
- ACUFF, G.R., C. VANDERZANT, F.A. GARDNER und F.A. GOLAN (1982):
Evaluation of an enrichment-plating procedure for the recovery of *Campylobacter jejuni* from turkey eggs and meat
J. Food Prot. 45, 1276-1278, 1281
- AGULLA, A., F.J. MERINO, P.A. VILLASANTE, J.V. SAZ, A. DIAZ und A.C. VELASCO (1987):
Evaluation of four enrichment media for isolation of *Campylobacter jejuni*
J. Clin. Microbiol. 25, 174-175
- ANDREWS, W.H., P.L. POELMA und C.R. WILSON (1981):
Comparative efficiency of brilliant green, bismuth sulfite, salmonella-shigella, hektoen enteric and xylose lysine desoxycholate agars for the recovery of *Salmonella* from foods: collaborative study
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64, 899-928
- ANONYM (1981):
Mastitis
Vet. Rec. 108, 67
- ANONYM (1983):
Zwei Ausbrüche von Lebensmittelvergiftungen durch *Campylobacter* in den USA
Bundesgesundhbl. 26, 411
- ANONYM (1984a):
Campylobacter outbreak associated with certified raw milk products - California
J. Food Prot. 47, 996
- ANONYM (1984b):
Campylobacteriosis associated with the consumption of raw milk - British Columbia
J. Food Prot. 47, 996-997
- ANONYM (1986):
Campylobacter outbreak associated with raw milk. Provided on a dairy tour - California
J. Food Prot. 49, 757-758
- ANONYM (1987):
Epidemic of gastrointestinal illness probably caused by *Campylobacter* in water - Quebec
Dairy Food San. 8, 145

- ARCHER, D.L. und J.E. KVENBERG (1985):
Incidence and cost of foodborne diarrheal disease in the
United States
J. Food Prot. 48, 887-894
- AYRES, J.C. (1967):
Use of fluorescent antibody for the rapid detection of
enteric organisms in egg, poultry and meat products
Food Technol. 21, 631-639
- BANWART, G.J. und J.C. AYRES (1953):
Effect of various enrichment broths and selective agars upon
the growth of several species of *Salmonella*
Appl. Microbiol. 1, 296-301
- BARRELL, R.A.E. (1981):
The survival of *C. jejuni/coli* in unpasteurised milk
J. Infekt. 3, 348-352
- BECKER, H. (1981):
Analyse von Sammelproben und Enterobacteriaceae als Index-
Mikroorganismen
Diss. med. vet. München
- BECKER, H. und G. TERPLAN (1986):
Salmonellen in Milch und Milchprodukten
J. Vet. Med. B. 33, 1-25
- BECKERS, H.J. (1982):
Incidence of foodborne disease in the Netherlands: Annual
summary 1979
J. Food Prot. 45, 1338-1341
- DERSELBE (1985):
Incidence of foodborne disease in the Netherlands: Annual
summary 1980
J. Food Prot. 48, 181-187
- DERSELBE (1986):
Incidence of foodborne disease in the Netherlands: Annual
summary 1981
J. Food Prot. 49, 924-931
- DERSELBE (1988):
Incidence of foodborne disease in the Netherlands: Annual
summary 1982 and an overview from 1979 to 1982
J. Food Prot. 51, 327-334
- BENJAMIN, J., S. LEAPER, R.J. OWEN und M.B. SKIRROW (1983):
Description of *Campylobacter lariidis*, a new species com-
prising the nalidixic acid resistant thermophilic *Campylo-*
bacter (NARTC)
Curr. Microbiol. 8, 231-238

BEUCHAT, L.R. (1985):

Efficacy of media and methods for detecting and enumerating *Campylobacter jejuni* in refrigerated chicken meat
Appl. Environ. Microbiol. 50, 934-939

BEUMER, R.R., A. NOOMEN, J.A. MARIJS und E.H. KAMPELMACHER (1985):

Antibacterial action of the lactoperoxidase system on *Campylobacter jejuni* in cow's milk
Neth. Milk Dairy J. 39, 107-114

BLACKBURN, B.O. und E.M. ELLIS (1973):

Lactose-fermenting *Salmonella* from dried milk and milk-drying plants
Appl. Microbiol. 26, 672-674

BLASER, M.J. und L.S. NEWMAN (1982):

A review of human salmonellosis: I. Infective dose
Rev. Jnf. Dis. 4, 1096-1106

BLASER, M.J., J. CRAVENS, B.W. POWERS und W.-L.L. WANG (1978):

Campylobacter enteritis associated with canine infection
Lancet II, 979-981

BLASER, M.J., F.M. LAFORCE, N.A. WILSON und W.-L.L. WANG (1980a):

Reservoirs for human campylobacteriosis
J. Inf. Dis. 14, 665-669

BLASER, M.J., J. CRAVENS, B.W. POWERS, F.M. LAFORCE und W.-L.L. WANG (1979a):

Campylobacter enteritis associated with unpasteurised milk
Am. J. Med. 67, 715-718

BLASER, M.J., I.D. BERKOWITZ, F.M. LAFORCE, J.M. CRAVENS, L.B. ELLER und W.-L.L. WANG (1979b):

Campylobacter enteritis: clinical and epidemiologic features
Ann. Int. Med. 91, 179-185

BLASER, M.J., R.I. GLASS, M.I. HUQ, B. STOLL, G.M. KIBRIYA und R.M.A. ALIM (1980b):

Isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* from Bangladeshi children
J. Clin. Microbiol. 12, 744-747

BOCKEMUHL, J. und H.P.R. SEELIGER (1985):

Die Auswirkung neuer taxonomischer Erkenntnisse auf die Nomenklatur von bakteriellen Seuchenerregern
Bundesgesundhb. 28, 65-69

BOER, E. De, B.J. HARTOG und G.H.A. BORST (1984):

Milk as a source of *Campylobacter jejuni*
Neth. Milk Dairy J. 38, 183-194

BOKKENHEUSER, V.D. und A.C. MOSENTHAL (1981):
Campylobacteriosis: a foodborne disease
J. Food Saf. 3, 127-143

BOLTON, F.J. und L. ROBERTSON (1982):
A selective medium for isolating Campylobacter jejuni/coli
J. Clin. Pathol. 35, 462-467

BOLTON, F.J. und D. COATES (1983):
Development of a blood-free Campylobacter medium: screening tests on basal media and supplements, and the ability of selected supplements to facilitate aerotolerance
J. appl. Bact. 54, 115-125

BOLTON, F.J., D. COATES und D.N. HUTCHINSON (1984a):
The ability of Campylobacter media supplements to neutralize photochemically induced toxicity and hydrogen peroxide
J. appl. Bact. 56, 151-157

BOLTON, F.J., D.N. HUTCHINSON und D. COATES (1984b):
Blood-free selective medium for isolation of Campylobacter jejuni from feces
J. Clin. Microbiol. 19, 169-171

BOWDRE, J.H., N.R. KRIEG, P.S. HOFFMAN und R.M. SMIBERT (1976):
Stimulatory effect of dihydroxyphenyl compounds on the aerotolerance of Spirillum volutans and Campylobacter fetus subspecies jejuni
Appl. Environ. Microbiol. 31, 127-133

BRANDL, E. (1985):
Gesundheitshygienische Aspekte des Rohmilchkonsums
Milchwirtschaftl. Berichte , Heftfolge 82, 19-24

BREER, C. (1984):
Campylobacter und Lebensmittel
Schriftenreihe der Schweizerischen Gesellschaft für Lebensmittelhygiene, Heft 14, 18-30

BRENNER, D.J. (1984):
Enterobacteriaceae
in: KRIEG, N.R. und J.G.HOLT (eds.)
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol 1, p.408-423
Williams und Wilkins, Baltimore

BROUWER, R., M.J.A. MERTENS, T.H. SIEM und J. KATCHAKI (1979):
An explosive outbreak of Campylobacter enteritis in soldiers
Antonie van Leeuwenhoek 45, 517-519

BRYAN, F.L. (1983):
Epidemiology of milk-borne diseases
J. Food Prot. 46, 637-649

- BRYAN, F.L., M.J. FANELLI und H. RIEMANN (1979):
in: RIEMANN, H. und F.L. BRYAN (eds.)
Salmonella infections
Foodborne infections and intoxications, p. 73-130
Academic Press, New York, San Francisco, London
- BUCK, G.E., C. FOJTASEK, K. CALVERT und M.T. KELLY (1982):
Evaluation of the Campy Pak II gas generator system for isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*
J. Clin. Microbiol. 15, 41-42
- BULLING, E. und O. PIETZSCH (1966):
Verbreitung der Salmonella-Infektionen bei Tieren, tierischen Lebens- und Futtermitteln in der Bundesrepublik Deutschland einschließlich Berlin (West), Jahresbericht 1965
Bundesgesundhbl. 9, 251-256
- BUSTA, F.F. (1976):
Practical implications of injured microorganisms in food
J. Milk Food Technol. 39, 138-145
- BUSS, W. und K. LANG (1960):
Salmonellen in einem Vorzugsmilchbestand
Arch. Lebensmittelhyg. 11, 171-173
- BUTZLER, J.P. und M.B. SKIRROW (1979)
Campylobacter enteritis
Clin. Gastroenterol. 8, 737-765
- BUTZLER, J.P., P. DEKEYSER, M. DETRAIN, M. und F. DEHAEN (1973):
Related vibrio in stools
J. Paediatr. 82, 493-495
- CHAU, P.Y. und Y.K. LEUNG (1978):
Inhibitory action of various plating media on the growth of certain *Salmonella* serotypes
J. appl. Bact. 45, 341-345
- CHUNG, K.C. und J.M. GOEPFERT (1970):
Growth of *Salmonella* at low pH
J. Food Sci. 35, 326-328
- CHRISTOPHER, F.M., G.C. SMITH und C. VANDERZANT (1982):
Examination of poultry giblets, raw milk and meat for *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*
J. Food Prot. 45, 260-262
- CRAVEN, P.C., D.C. MACKEL, W.B. BAINE, W.H. BARKER, E.J. GANGAROSA, M. GOLDFELD, H. ROSENFELD, R. ALTMAN, G. LACHAPPELLE, J.W. DAVIES und R.C. SWANSON (1975):
International outbreak of *Salmonella* eastbourne infection traced to contaminated chocolate
Lancet I, 788-793

CROSA, J.H., D.J. BRENNER, W.H. EWING und S. FALKOW (1973):
Molecular relationships among the salmonellae
J. Bacteriol. 115, 307-315

CROTTI, D., C. BARBIERI, P. CELLIE, G. ONZO und F. VISINTIN
(1987):
Campylobacter or Salmonella, which is prevalent
in: KAISER, B und E. FALSEN (eds.)
Campylobacter IV. Proceedings of the IV. Int. Workshop
on Campylobacter infections, Göteborg/Schweden
Abstract 119

D'AOUST, J.-Y. (1981):
Update on preenrichment and selective enrichment conditions
for detection of Salmonella in foods
J. Food Prot. 44, 369-374

DERSELBE (1984):
Effective enrichment-plating conditions for detection of
Salmonella in foods
J. Food Prot. 47, 588-590

DERSELBE (1985):
Brief reports
Infective dose of Salmonella typhimurium in Cheddar cheese
Am. J. Epidemiol. 122, 717-720

DAVIES, E.T. und J.A. VENN (1962):
The detection of a bovine carrier of Salmonella heidelberg
J. Hyg. Camb. 60, 495-500

DEKEYSER, P., M. GOSSUIN-DETRAIN, J.P. BUTZLER und J. STERNON
(1972):
Acute enteritis due to related vibrio: first positive stool
cultures
J. Inf. Dis. 125, 390-392

DOYLE, L.P. (1944):
A vibrio associated with swine dysentery
Am. J. Vet. Res. 5, 3-5

DERSELBE (1948):
The etiology of swine dysentery
Am. J. Vet. Res. 9, 50-51

DOYLE, M.P. (1981):
Campylobacter fetus subsp jejuni: An old pathogen of new
concern
J. Food Prot. 44, 454 und 480-488

DOYLE, M.P. und D.J. ROMAN (1982a):
Recovery of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from
inoculated foods by selective enrichment
Appl. Environ. Microbiol. 43, 1343-1353

DIESELBEN (1982b):

Prevalence and survival of *Campylobacter jejuni* in unpasteurized milk

Appl. Environ. Microbiol. 44, 1154-1158

DUFTY, J.H. (1967):

Diagnosis of vibriosis in the bull

Aust. Vet. J. 43, 433-437

EASTER, M.C. und D.M. GIBSON (1985):

Rapid and automated detection of *Salmonella* by electrical measurements

J. Hyg. Camb. 94, 245-262

EDEL, W. und E.H. KAMPELMACHER (1973):

Comparative studies on the isolation of "sublethally injured" *Salmonellae* in nine European laboratories

Bull. Wrd. Hlth. Org. 48, 167-174

EDMONDS, P., C.M. PATTON, T.J. BARRETT, G.K. MORRIS, A.G.

STEIGERWALT und D.J. BRENNER (1985):

Biochemical and genetic characteristics of atypical *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* strains isolated from humans in the United States

J. Clin. Microbiol. 21, 936-940

EHLERS, J.G., M. CHAPPARO-SERRANO, R.L. RICHTER und C.

VANDERZANT (1982):

Survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in Cheddar and Cottage cheese

J. Food Prot. 45, 1018-1021

ELLIS, W.A., S.D. Neill, J.J. O'BRIEN, H.W. FERGUSON und J.

HANNA (1977):

Isolation of *Spirillum/Vibrio*-like organisms from bovine fetuses

Vet. Rec. 100, 451-452

EWING, W.H. (1986):

Edwards and Ewings identification of *Enterobacteriaceae*

4 th edition, p.181-245

Elsevier Science Publishing, New York

EZENWA, A.O. (1986):

Observations on the trends, characteristics and control of foodborne infections in Nigeria

2nd World Congress Foodborne Infections and Intoxications, Berlin (West) ; Proceedings, Vol. I, p.118-127

FAGERBERG, D.J. und J.S. EVANS (1976):

Enrichment and plating methodology for *salmonella* detection in food

J. Milk Food Technol. 39, 628-646

FARMER, J.J., B.R. DAVIES, F.W. HICKMAN-BRENNER, A. McWHORTER, G.P. HUNTLEY-CARTER, M.A. ASBURY, C. RIDDLE, H.G. WATHEN-GRADY, C. ELIAS, G.R. FANNING, A.G. STEIGERWALT, C.M. O'HARA, G.K. MORRIS, P.B. SMITH und D.J. BRENNER (1985): Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens
J. Clin. Microbiol. 21, 46-76

FERNIE, D.S. und R.W.A. PARK (1977):
The isolation and nature of Campylobacters (microaerophilic vibrios) from laboratory and wild rodents
J. Med. Microbiol. 10, 325-329

FERNIE, D.S., R.M. GRIFFEN und R.W.A. PARK (1975):
The possibility that Campylobacter (Vibrio) coli and Treponema hyodysenteriae both involved in swine dysentery
Br. Vet. J. 131, 335-338

FIREHAMMER, B.D. (1965):
The isolation of vibrios from ovine faeces
Cornell Vet. 55, 482-494

FITTS, R. (1985)
Developement of a DNA-DNAhybridization test for the presence of Salmonella in foods
Food Technol. 39 (3), 95-102

FITTS, R., M. DIAMOND, C. HAMILTON und M. NERI (1983):
DNA-DNAhybridization assay for detection of Salmonella spp. in foods
Appl. Environ. Microbiol. 46, 1146-1151

FLORENT, A. (1953):
Isolement d'un vibriion saprophyte du sperme du taureau et du vagin de la vache (vibrio bubulus)
C.R. Soc. Biol. 147, 2066-2069

DERSELBE (1959):
Les deux vibrioses genitales de la bete bovine: La vibriose venerienne, due a vibrio foetus veneralis, et la vibriose d'origine intestinale due a V. foetus intestinalis
Proc. 10th Int. Vet. Cong. Madrid, 2, 953-957
zit. n. DOYLE, M.P. (1981)
Campylobacter fetus subsp. jejuni: An old pathogen of new concern
J. Food Prot. 44, 454 und 480-488

FLOWERS, R.S. (1985):
Comparison of rapid Salmonella screening methods and the conventional culture method
Food Technol. 39, 103-108

- FONTAINE, R.E., M.L. COHEN, W.T. MARTIN und T.M. VERNON (1980):
Epidemic salmonellosis from Cheddar cheese: surveillance and prevention
Am. J. Epidemiol. 111, 247-253
- FRICKER (1987):
The isolation of salmonellas and campylobacters
J. appl. Bact. 63, 99-116
- GALBRAIGHT, N.S., P. FORBES und C. CLIFFORD (1982):
Communicable disease associated with milk and dairy products in England and Wales 1951-1980
Br. Med. J. 284, 1761-1765
- GEBHART, C.J., G.E. WARD, K. CHANG und H.J. KURTZ (1983):
Campylobacter hyointestinalis (new species) isolated from swine with lesions of proliferate ileitis
Am. J. Vet. Res. 44, 361-367
- GEBHART, C.J., P. EDMONDS, G.E. WARD, H.J. KURTZ und D.J. BRENNER (1985):
"Campylobacter hyointestinalis" sp. nov.: a new species of Campylobacter found in the intestines of pigs and other animals
J. Clin. Microbiol. 21, 715-720
- GEORGE, J.T.A., J.G. WALLACE, H.R. MORRISON und J.F. HARBOURNE (1972):
Paratyphoid in man and cattle
Br. Med. J. 3, 208-211
- GEORGE, H.A., P.S. HOFFMAN, R.M. SMIBERT und N.R. KRIEG (1978):
Improved media for growth and aerotolerance of Campylobacter fetus
J. Clin. Microbiol. 8, 36-41
- GIBSON, E.A. (1965):
Reviews of the progress of dairy science (Section E. Diseases of dairy cattle. Salmonella infection in cattle)
J. Dairy Res. 32, 97-134
- GILL, K.P.W., P.G. BATES und K.P. LANDER (1981):
The effect of pasteurization on the survival of Campylobacter species in milk
Br. Vet. J. 137, 578-584
- GILL, O.N., P.N. SOCKETT, C.L.R. BARTLETT und M.S.B. VALLE (1983):
Outbreak of Salmonella napoli infection caused by contaminated chocolate bars
Lancet *I*, 574-577

GLOUCESTER VETERINARY INVESTIGATION CENTER (1979):

Vet. Rec. 105, 291

zit. n. ROBINSON, D.A. und D.M. JONES (1981)

Milk-borne campylobacter infection

Br. Med. J. 282, 1374-1376

GUN-MUNRO, J., R.P. RENNIE, J.H. THORNLEY, H.L. RICHARDSON,
D. HODGE und J. LYNCH (1987):

Laboratory and clinical evaluation of isolation media for
Campylobacter jejuni

J. Clin. Microbiol. 25, 2274-2277

HÄNNINEN, M.-L. (1982):

Effect of recovery medium on the isolation of Campylobacter
jejuni before and after heat treatment

Acta vet. scand. 23, 416-424

HÄNNINEN, M.-L., H. KORKEALA und P. PAKKALA (1984):

Effect of various gas atmospheres on the growth and survival
of Campylobacter jejuni on beef

J. appl. Bact. 57, 89-94

HARMS, F. (1959):

Salmonellen-Dauerausscheider und Milchhygiene

Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 66, 131-133

HARTOG, B.J., G.J.A. de WILDE und E. De BOER (1983):

Poultry as a source of Campylobacter jejuni

Arch. Lebensmittelhyg. 34, 116-122

HARVEY, R.W.S. und T.H. PRICE (1979):

Principles of salmonella isolation

J. appl. Bact. 46, 27-56

DIESELBEN (1981):

Comparison of Selenite F, Muller-Kauffmann tetrathionate and
Rappaport's medium for salmonella isolation from chicken

giblets after preenrichment in buffered peptone water

J. Hyg. Camb. 87, 219-224

HARVEY, R.W.S., T.H. PRICE und E. XIROUCHAKO (1979):

Comparison of Selenite F, Muller-Kauffmann tetrathionate and
Rappaport's medium for the isolation of salmonella from
sewage-polluted natural water using a pre-enrichment
technique

J. Hyg. Camb. 83, 451-460

HEISICK, J. (1985):

Comparison of enrichment broths for isolation of Campylo-
bacter jejuni

Appl. Environ. Microbiol. 50, 1313-1314

- HEISICK, J., J. LANIER und J.T. PEELER (1984):
Comparison of enrichment methods and atmosphere modification
procedures for isolating *Campylobacter jejuni* from foods
Appl. Environ. Microbiol. 48, 1254-1255
- HIRN, J. und M. AHO (1986):
Foodborne disease outbreaks in Finland 1975-1984
2nd World Congress Foodborne Infections and Intoxications,
Berlin
(West); *Proceedings*, Vol. I, p. 94-98
- HOFFMAN, P.S., N.R. KRIEG und R.M. SMIBERT (1979a):
Studies of the mikroaerophilic nature of *C. fetus* subsp.
jejuni
I. Physiological aspects of enhanced aerotolerance
Can. J. Microbiol. 25, 1-7
- DIESELBEN (1979b):
Studies of the microaerophilic nature of *C. fetus* subsp.
jejuni
II. Role of exogenous superoxide anions and hydrogen
Can. J. Microbiol. 25, 8-16
- HOUENDA, J.P. (1986):
Hygienisch-bakteriologische Untersuchungen zur Milchver-
sorgung in der Volksrepublik Kongo
Diss. med. vet. München
- HUDSON, P.J., R.L. VOGT, J. BRONDUM und C.M. PATTON (1984):
Isolation of *Campylobacter jejuni* from milk during an out-
break of campylobacteriosis
J. Inf. Dis. 150, 789
- HUMPHREY, T.J. und P. BECKETT (1987):
Campylobacter jejuni in dairy cows and raw milk
Epidem. Inf. 98, 263-269
- HUNT, J.M., D.W. FRANCIS, J.T. PEELER und J. LOVETT (1985):
Comparison of methods for isolating *Campylobacter jejuni* from
raw milk
Appl. Environ. Microbiol. 50, 535-536
- HURLEY, N.A. und J.C. AYRES (1953):
A comparison of six enrichment media for isolating *Salmonella*
pullorum from egg-products
Appl. Microbiol. 1, 302-306
- HURST, A. (1980):
Injury and its effect on survival and recovery
in: SILLIKER, J.H., R.P. ELLIOTT, A.C. BAIRD-PARKER, F.L.
BRYAN, J.H.B. CHRISTIAN, D.S. CLARK, J.C. OLSON Jr. und T.A.
ROBERTS (eds.):
Microbial ecology foods. Factors affecting life and death of
microorganisms, Vol. I. p. 205-214
Academic Press, New York, London, Toronto, Sydney, San
Francisco

HUTCHINSON, D.N. und F.J. BOLTON (1983):

Is enrichment culture necessary for the isolation of *Campylobacter jejuni* from faeces

J. Clin. Pathol. 36, 1350-1352

HUTCHINSON, F., J. BOLTON, P. HINCHLIFE, H.C. DAWKINS, S.D. HORSLEY, E.G. JESSOP, P.A. ROBERTSHAW und D.E. COUNTER (1985):

Evidence of udder excretion of *Campylobacter jejuni* as the cause of milk-borne campylobacter outbreak

J. Hyg. Camb. 94, 205-215

IBRAHIM, G.F. und G.H. FLEET (1985):

Detection of salmonellae using accelerated methods

Int. J. Food Microbiol. 2, 259-272

INOUE, T., S. TAKAGI, S. OHNISHI, A. TAMURA, K. und A. SUZUKI (1968):

Food-borne disease salmonella isolation medium (MLCB)

66th Annual Meeting of the Society Veterinary Science of Japan

zit. n. VAN SCHOTHORST, M., A. RENAUD und C. van BECK (1987):

Salmonella isolation using RVS broth and MLCB agar

Food Microbiol. 4, 11-18

JONAS, D., H. POLLMANN und G. BUGL (1986):

Salmonella-Isolierungen aus Lebensmitteln tierischer Herkunft

- Vergleichsuntersuchungen zur Leistungsfähigkeit des modifizierten Rappaportmediums (R10)

Arch. Lebensmittelhyg. 37, 65-74

JONES, D.M., D.A. ROBINSON und J. ELDRIDGE (1981a):

Serological studies in two outbreaks of *Campylobacter jejuni* infection

J. Hyg. Camb. 87, 155-162

JONES, F.S. und R.B. LITTLE (1931a):

The etiology of infectious diarrhea (winter scours) in cattle

J. Exp. Med. 53, 835-843

DIESELBEN (1931b):

Vibronic enteritis in calves

J. Exp. Med. 53, 845-851

JONES, F.S., M. ORCUTT und R.B. LITTLE (1931):

Vibrios (*Vibrio jejuni* n. sp.) associated with intestinal disorders of cows and calves

J. Exp. Med. 53, 853-864

JONES, P.H., A.T. WILLIS, D.A. ROBINSON, M.B. SKIRROW und D.S. JOSEPHS (1981b):

Campylobacter enteritis associated with the consumption of free school milk

J. Hyg. Camb. 87, 155-162

- JONES, R.E. und W.R.C. HANDLEY (1945):
A selective medium for the isolation of salmonella from heavily contaminated material
Monthly Bull. Min. Health. (Gr. Brit.) 4, 107-111
- KALAPOTHAKI, V., P. VASSILIADIS, CH. MAVROMMATI und D. TRICHOPOULOS (1983):
Comparison of Rappaport-Vassiliadis enrichment medium and tetrathionate brilliantgreen broth for isolation of salmonellae from meat products
J. Food Prot. 46, 618-621
- KAMPELMACHER, E.H. (1980):
Mit Salmonellen leben
Fleischwirtsch. 60, 1670-1671
- KARMALI, M.A. und P.C. FLEMING (1979a):
Campylobacter enteritis - review article
Canad. Med. Assoc. J. 120, 1525-1532
- DIESELBEN (1979b):
Application of the Fortner principle to isolation of campylobacter from stools
J. Clin. Microbiol. 10, 245-247
- KARMALI, M.A. und M.B. SKIRROW (1984):
Taxonomy of the genus Campylobacter
in: BUTZLER, P.J. (ed.): Campylobacter infection in man and animals, p.1-20
CRC Press., Boca Raton, Fla.
- KARMALI, M.A., A.K. ALLEN und P.C. FLEMING (1981):
Differentiation of catalase-positive campylobacters with special reference to morphology
Int. J. Syst. Bact. 31, 64-71
- KASIRYE-ALEMU, E. (1986):
Important foodborne illnesses in Kenya and factors contributing to the problem
2nd World Congress Foodborne Infections and Intoxications, Berlin (West); Proceedings, Vol. I, p.128-133
- KAUFFMANN, F. (1930):
Ein kombiniertes Anreicherungsverfahren für Typhus- und Paratyphusbazillen
Zbl. Bakt. Abt. I, Orig. 119, 148-152
- DERSELBE (1935):
Weitere Erfahrungen mit kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonella bazillen
Z. Hyg. Infekt. 117, 26-32

- KAZMI, S.U., B.S. ROBERSON und N.J. STERN (1985):
Cadmium chloride susceptibility, a characteristic of
Campylobacter spp.
J. Clin. Microbiol. 21, 708-710
- KING, E.O. (1957):
Human infections with *Vibrio fetus* and a closely related
Vibrio
J. Inf. Dis. 121, 119-128
- DIESELBE (1962):
The laboratory recognition of *Vibrio fetus* and a closely
related *Vibrio* from cases of human vibrioses
Ann. NY Acad. Sci. 98, 700-711
- KINGSCOTE, B. (1961):
Use of catalase in the culture of *Vibrio fetus*
Can. J. Microbiol. 7, 951-952
- KLEIN, H. (1957):
Salmonella manhattan in der Milch
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 70, 313-314
- KRYSINSKI, E.F. und R.C. HEIMSCHE (1977):
Use of enzyme-labeled antibodies to detect salmonella in foods
Appl. Environ. Microbiol. 33, 947-954
- LANDER, K.P. und K.P.W. GILL (1980):
Experimental infection of the bovine udder with *C. je-*
juni/coli
J. Hyg. Camb. 84, 421-428
- LANDER, K.P. und A. BASKERVILLE (1983):
Campylobacter jejuni mastitis in cows. Bacteriology and
pathology
in: PEARSON, A.D., M.B. SKIRROW, B. ROWE, J.R. DAVIES und
D.H.
JONES (eds.)
Campylobacter II, Proceedings of the second Int. Workshop on
Campylobacter infections, p. 129-130
Public Health Laboratory Service, London
- LANG K. (1961):
Über das Problem der universellen Menschenpathogenität der
Salmonellen
Dtsch. tierärztl. Wschr. 68, 530-534
- DERSELBE (1972):
Die pathogenen Enterobakterien in Milch und
Milcherzeugnissen,
1. Teil
Alimenta 11, 209-212

DERSELBE (1973):

Die pathogenen Enterobakterien in Milch und Milcherzeugnissen,
2. Teil

Alimenta 12, 39-44

LAUWERS, S., M. De BOECK und J.P. BUTZLER (1978):

Campylobacter enteritis in Brussels

Lancet I, 604-605

LAWSON, G.H.K. und A.C. ROWLAND (1974):

Intestinal adenomatosis in pig: a bacteriological study

Res. Vet. Sci. 17, 331-336

LECOS, C. (1986):

Of microbes and milk: probing America's worst Salmonella outbreak

FDA Consumer 20, 18-21

LEHR, E. (1927):

Über eine durch den Bazillus enteritidis Gärtner hervorgerufene, seuchenhafte Darmentzündung in einem Rinderbestande
Berl. Tierärztl. Wschr. 43, 247-280

LE MINOR, L. (1984):

Salmonella

in: KRIEG, N.R. und J.G. HOLT (eds)

Bergey's Manual of systemactic Bacteriology, vol. 1, p. 427-458

Williams und Wilkins, Baltimore

LE MINOR, L., M. VERON und M. POPOFF (1982a):

Taxonomie des Salmonella

Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 133 B, 223-243

DIESELBEN (1982b):

Proposition pour une nomenclature des Salmonella

Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 133 B, 245-254

LEVY, A.J. (1946):

A gastroenteritis outbreak probably due to a bovine strain of vibrio

Yale J. Biol. Med. 18, 243-259

LINTON, A.H. (1983):

Guidelines on prevention and control of salmonellosis

World Health Organisation VPH/83.42

Bristol, United Kingdom

LITCHFIELD, J.H. (1973):

Salmonella and the food industry-methods for isolating, identification and enumeration

CRC Crit. Rev. Food Technol. 3, 415-456

- LOGAN, E.F., S.D. NEILL und D.P. MACKIE (1982):
Mastitis in dairy cows associated with an aerotolerant
campylobacter
Vet. Rec. 110, 229-230
- LOVETT, J., D.W. FRANCIS und J.M. HUNT (1983):
Isolation of *Campylobacter jejuni* from raw milk
Appl. Environ. Microbiol. 46, 459-462
- LUECHTEFELD, N.A.W., M.J. BLASER, L.B. RELLER und W.-L.L.
WANG (1980):
Isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* from migratory
waterfowl
J. Clin. Microbiol. 12, 406-408
- LUECHTEFELD, N.A.W., R.C. CAMBRE und W.-L.L. WANG (1981):
Isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* from zoo
animals
J. Am. Vet. Med. Assoc. 179, 1119-1122
- LÜTJE, F. (1955):
Salmonellosen nach Genuß von Milch und Milchprodukten
SVZ. 55, 276-280
- MacDONALD, K.L. und P.M. GRIFFIN (1986)
Foodborne disease outbreaks annual summary, 1982
J. Food Prot. 49, 933-939
- MACLACHLAN, J. (1974):
Salmonellosis in Midlothian and Peeblesshire
Publ. Hlth. 88, 79-87
zit. n. WRAY, C. und W.J. SOJLA (1977):
Reviews of the progress of dairy science: bovine
salmonellosis
J. Dairy Res. 44, 383-425
- MARSHALL, B. (1983):
Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active
chronic gastritis
Lancet I, 1273-1275
- MARSHALL, B. und J.R. WARREN (1983):
Spiral bacteria in the human stomach a common finding in
patients with gastritis and duodenal ulcer
in: PEARSON, A.D., M.B. SKIRROW, B. ROWE, J.R. DAVIES und
D.M. JONES (eds.):
Campylobacter II. Proceedings of the second Int. Workshop on
Campylobacter infections, p.11-12
Public Health Laboratory Service, London
- MARSHALL, B.J. und C.S. GOODWIN (1987):
Revised nomenclature of *Campylobacter pyloridis*
Int. J. Syst. Bacteriol. 37, 68

MATTINGLY, A.J., B.J. ROBINSON, A. BOEHM und W.D. GEHLE (1985):

Use of monoclonal antibodies for the detection of salmonellae in foods

Food Technol. 39 (3), 90-94

McCLUNG, D.R. und D.G. PATRIQUIN (1980):

Isolation of a nitrogen-fixing *Campylobacter* species from the roots of *Spartina alterniflora* Loisel

Can. J. Microbiol. 26, 881-886

McCLUNG, C.R., D.G. PATRIQUIN und R.E. DAVIES (1983):

Campylobacter nitrofigilis sp. nov., a nitrogenfixing-bacterium associated with roots of *Spartina alterniflora* Loisel

Int. J. Syst. Bacteriol. 33, 605-612

McCORMICK, A. (1986):

Surveillance of Food Poisoning and Salmonellosis in England and Wales 1980-1984

2nd World Congress Foodborne Infections and Intoxications, Berlin (West); Proceedings, Vol. I, p.90

McCOY, J.H. (1962):

The isolation of *Salmonellae*

J. appl. Bact. 25, 213-224

McFADYEAN, J., und S. STOCKMAN (1913):

Report of the departmental committee appointed by the board of agriculture and fisheries to enquire into epizootic abortion.

His Majesty's Stationery Office, London

zit. n. DOYLE, M.P. (1981)

Campylobacter fetus subsp. *jejuni*: An old pathogen of new Concern

J. Food Prot. 44, 454 und 480-488

McNAUGHTON, R.D., R. LEYLAND und L. MUELLER (1982):

Brief - Outbreaks of *Campylobacter* enteritis due to consumption of a raw milk

CMA Journal 126, 657-658

MENTZING, L.-O. (1981):

Waterborne outbreaks of *Campylobacter* enteritis in central Sweden

Lancet II, 352-354

MEGRAUD, F., A. BELBOURI, D. MONGRET und J.P. GAYRAL (1987):

A micromethod to identify *Campylobacter* species

in: KAISER, B. und E. FALSEN (eds.):

Campylobacter IV. Proceedings of the IV Int. Workshop on *Campylobacter* infections, Göteborg/Schweden

Abstract 119

MITSCHERLICH, E. (1981):
Campylobacter und Vibrio
 in: BLOBEL, H. und T. SCHLIESSER (eds.):
Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Bd. III, S.
1-74
 G. Fischer Verlag, Stuttgart

MOATS, W.A. (1981):
 Update on Salmonella in foods: selective plating media and
 other diagnostic media
J. Food Prot. 44, 375-380

MONTFORD, J. und F.S. THATCHER (1961):
 Comparison of four methods of isolating salmonellae from
 foods and elaboration of a preferred procedure
J. Food Sci. 26, 510-517

MORGAN, G., P. CHADWICK, K.P. LANDER und K.P.W. GILL (1985):
Campylobacter jejuni mastitis in a cow. A zoonosis-related
incident. Letters.
Vet. Rec. 116, 111

MORRIS, G.K. und C.M. PATTON (1985):
Campylobacter
 in: LENETTE, E.H., A. BALOWS, W.J. HAUSLER, J. und H.J.
 SHADOMY (eds.):
Manual of Clinical Microbiol. 4th edition, 302-308
 American Society for Microbiology, Washington D.C.

MOSSEL, D.A.A. (1977):
Microbiology of foods. Occurrence, prevention and monitoring
of hazards and deterioration
 The University of Utrecht, Utrecht, The Netherlands

MOSSEL, D.A.A. und J.E.L. CORRY (1977):
 Detection and enumeration of sublethally injured pathogenic
 and index bacteria in foods and water processed for safety
 aliments
Alimenta-Sonderausgabe 1977, 19-34

MÜLLER, H.E. (1979):
 Über die unterschiedliche Infektiosität und Pathogenität von
 187 Salmonella-Serotypen
Bundesgesundhbl. 22, 329-338

MULLER, L. (1923):
 Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du
 bacille typhique et des paratyphiques
Comp. Rendus Soc. Biol. 89, 434-436
 zit. n. POELMA E.L., W.H. ANDREWS und J.H. SILLIKER (1984):
Salmonella
 in: SPECK, M.L. (ed.):
Compendium of methods for the microbiological examination of
foods
 American Public Health Association, Washington

MUNOZ, A., E. FRAPOLLI, M.A. MORINIGO, J.J. BORREGO und P. ROMERO (1987):

Isolation of salmonella using three selective enrichment broths from sausage naturally contaminated. Its relationship with other microorganisms that produce food toxi-infections
Zbl. Bakt. Hyg. B 185, 105-111

MURRAY, J.G. (1966):

Salmonellae in farm milk

17. Int. Milchwirtschaftl. Kongreß München, 4-8.7.1966

zit. n. WEIGT, U., M. MÖLLER und E. BLECKMANN (1972):

Kasuistischer Beitrag zur Salmonelleninfektion des Euters
Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 324-327

NEILL, S.D., J.N. CAMPBELL, J.J. O'BRIEN, S.T.C. WEATHERUP und W.A. ELLIS (1985):

Taxonomic position of *Campylobacter cryaerophila* sp. nov.
Int. J. Syst. Bacteriol. 35, 342-356

NEUMANN, H.-H. (1985):

Zur milchhygienischen Bedeutung von *Campylobacter jejuni*

26. Arbeitstagung der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Arbeitskreis Lebensmittelhygiene, Garmisch-Partenkirchen, S. 374-389

NG, L.-K., M.E. STILES und D.E. TAYLOR (1985):

Comparison of basal media for culturing *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*

J. Clin. Microbiol. 21, 226-230

NORTH, W.R. (1961):

Lactose pre-enrichment method for isolating of *Salmonella* from dried egg albumen

Appl. Microbiol. 9, 188-195

NORTH, W.R. und M.T. BARTRAM (1953):

The efficiency of selenite broth of different compositions in the isolation of *Salmonella*

Appl. Microbiol. 1, 130-134

NORTHOLT, M.D., J. STADHOUDERS und W. van ASSELDONK (1985):

Comparison of Rappaport-Vassiliadis medium and Müller-Kauffmann medium for the detection of salmonellae in caseinate and milk powder

Neth. Milk Dairy J. 39, 49-55

OOSTEROM, J., G.B. ENGELS, R. PETERS und R. POT (1982):

Campylobacter jejuni in cattle and raw milk in The Netherlands

J. Food Prot. 45, 1212-1213

OOSTEROM, J. (1985):

Studies on the epidemiology of *Campylobacter jejuni*

Diss. med. vet. Bilthoven (Niederlande)

PALUMBO, S.A. (1986):

Campylobacter jejuni in foods: its occurrence, isolation from foods, and injury

J. Food Prot. 49, 161-166

PARK, C.E., Z.K. STANKIEWICZ, J. LOVETT und J. HUNT (1981):

Incidence of *Campylobacter jejuni* in fresh eviscerated whole market chickens

Can. J. Microbiol. 27, 841-842

PARK, C.E., Z.K. STANKIEWICZ und J.Y. D'AOUST (1987):

Thermal inactivation of campylobacters in fluid milk

in: KAISER, B. und E. FALSEN (eds.):

Campylobacter IV. Proceedings of the IV Int. Workshop on *Campylobacter* infections, Göteborg/Schweden

Abstract 119

PATTON, C.M., N. ATTER, P. EDMONDS, T.J. BARRETT, M.A.

LAMBERT,

C. BAKER und D.J. BRENNER (1987):

Human disease associated with catalase negative or weakly reacting thermotolerant campylobacter in the United States in: KAISER, B. und E. FALSEN (eds.):

Campylobacter IV. Proceedings of the IV Int. Workshop on *Campylobacter* infections, Göteborg/Schweden

Abstract 120

PECKAM, M.C. (1958):

Avian vibronic hepatitis

Avian Diseases 2, 348-358

PEREZ, J., O. TELLO, M. MATA und J. FUENTE (1986):

Foodborne infections and intoxications - outbreaks evolution in Spain: 1976 - 1984

2nd World Congress Foodborne Infections and Intoxications, Berlin

(West); Proceedings, Vol. I, p. 104-109

PIETZSCH, O. (1978):

Verbreitung der Salmonella-Infektionen bei Tieren, tierischen Lebens- und Futtermitteln in der Bundesrepublik Deutschland einschl. Berlin (West). Jahresberichte 1975 und 1976

Bundesgesundhbl. 21, 389-411

DERSELBE (1981):

Salmonella

in: BLOBEL, H. und T. SCHLIESSER (eds.):

Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren Band III, S. 344-433

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

DERSELBE (1985):

Rundschreiben Nr. 43

Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes,
Berlin

(Robert von Ostertag-Institut)

PIETZSCH, O. und E. TAN (1987):

Vergleich von drei Salmonella-Anreicherungs Nährböden nach
Rappaport-Vassiliadis

28. Arbeitstagung der Deutschen Veterinärmedizinischen
Gesellschaft, Arbeitskreis Lebensmittelhygiene, Garmisch-
Partenkirchen

PLUMER, G.J., W.C. DUVAL und V.M. SHEPLER (1962):

A preliminary report on a new technic for isolation of *Vibrio*
fetus from carrier bulls

Cornell Vet. 52, 110-122

DERSELBE (1982):

Salmonellose Überwachung beim Menschen in der Bundesrepublik
Deutschland. Jahresberichte 1978-1980 des Zentralen Über-
wachungsprogramms für Salmonellosen des Bundesgesund-
heitsamtes

Dietrich Reimer Verlag, Berlin (West)

DERSELBE (1983):

Die Epidemiologie der Enteritis infectiosa in der Bundes-
republik Deutschland

Bundesgesundhbl. 26, 313-316

PÖHN, H.-P. und R. GROSSMANN (1986):

Outbreaks of foodborne diseases in the Federal Republic of
Germany 1983 - 1985

2nd WORLD Congress Foodborne Infections and Intoxications,
Berlin

(West); Proceedings, Vol. I, p. 99-103

POPPE, H.H. (1961):

Über eine Salmonella-manchester-Endemie beim Menschen in
Bremen und die für die Vorzugsmilchgewinnung sich hieraus
ergebenden Fragen.

Arch. Lebensmittelhyg. 12, 266-269

PORTER, J.A., und T.M.S. REID (1980):

A milk-borne outbreak of *Campylobacter* infection

J. Hyg. Camb. 84, 415-419

POTTER, M.E., M.J. BLASER, R.K. SIKES, A.F. KAUFFMANN und
J.G. WELLS (1983):

Human *Campylobacter* infection associated with certified raw
milk

Am. J. Epidemiol. 117, 475-483

- PREVOT, A.R. (1940):
Etudes de systematique bacterienne. V. Classification des
vibrions anaerobies
Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 64, 117-125
- QUINN, T.C., W.E. STAMM, S.E. GOODELL, E. MARTICHIAN
J. BENEDETTI, L. COREY, M.D. HUFFLER und K.K. MES (1983):
The polymicrobial origin of intestinal infections in
homosexual men
N. Engl. J. Med. 309, 576-582
- RAPPAPORT, F., N. KONFORTI und B. NAVON (1956):
A new enrichment medium for certain Salmonellae
J. Clin. Path. 9, 261-266
- RASCH, K. (1957):
Die Bekämpfung der Rindersalmonellose im Blickpunkt der
Lebensmittelhygiene
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 70, 161-162
- RAY, B. (1979):
Methods to detect stressed microorganisms
J. Food Prot. 42, 346-355
- RAY, B., J.J. JEZESKI und F.F. BUSTA (1972):
Isolation of salmonellae from naturally contaminated dried
milk products
III Influence of pre-enrichment conditions
J. Milk Food Technol. 35, 607-614
- RITCHIE, J.M. und N.M. CLAYTON (1951):
Monthly Bull. Min. Health (Gr. Brit.) 10, 272
zit. n. WRAY, C. und W. J. SOJKA (1977):
Reviews of the progress of dairy science: bovine
salmonellosis
J. Dairy Res. 44, 383-425
- ROBINSON, D.A. (1981):
Infective dose of Campylobacter jejuni in milk
Br. Med. J. 282, 1584
- ROBINSON, D.A. und D.M. JONES (1981):
Milk-borne campylobacter infection
Br. Med. J. 282, 1374-1376
- ROBINSON, D.A., W.J. EDGAR, G.L. GIBSON, A.A. MATCHETT und L.
ROBERTSON (1979):
Campylobacter enteritis associated with consumption of
unpasteurized milk
Br. Med. J. 1, 1171-1173
- ROEMMELE, O. (1959):
Vorkommen von Salmonellen in Milch und Milcherzeugnissen und
Verhinderungsmaßnahmen
Milchwiss. 14, 569-572

- ROLLINS, D.M. und R.R. COLWELL (1986):
Viable but nonculturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment
Appl. Environ. Microbiol. 52, 531-538
- ROSEF, O. und G. KAPPERUD (1983)
House flies (*Musca domestica*) as possible vectors of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*
Appl. Environ. Microbiol. 45, 381-383
- ROSEF, O., B. GONDROSEN, G. KAPPERUD und B. UNDERDAL (1983):
Isolation and characterization of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from domestic and wild mammals in Norway
Appl. Environ. Microbiol. 46, 855-859
- RUDOLF, J. (1928):
Beitrag zur Kenntnis der durch Stäbchen aus der Coli-Paratyphusgruppe bedingten Mastitiden
Dtsch. tierärztl. Wschr. 36, 17-20
- SANBORN, W.R., M. LESMANA und E.A. EDWARDS (1980):
Enrichment culture coagglutination test for rapid, low-cost diagnosis of salmonellosis
J. Clin. Microbiol. 12, 151-155
- SCHÖNBERG, F. (1956):
Milchkunde und Milchhygiene
Verlag M. und H. Schaper, Hannover
- SCHÜPPEL, H. und P. JANETSCHKE (1984):
Die Voranreicherung in der mikrobiologischen Untersuchung der Milch
Arch. exper. Vet. med., 38, 142-152
- SEBALD, M. und M. VERON (1963):
Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions
Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) 105, 897-910
- SEELIGER, H.P.R. (1972):
Lebensmittelinfektionen und -vergiftungen aus der Sicht des Hygieniker
Bundesgesundhbl. 15, 381-387
- SEGLENIKS, Z. und S. DIXON (1977):
Outbreak of milk-borne *Salmonella gastroenteritis*-South Australia
MMWR 26, 127
- SENS, H. (1957):
Geschichtlicher Überblick über die durch Milchgenuß verursachten Epidemien
Arch. Lebensmittelhyg. 8, 154-155

SHARP, J.C.M., G. M. PATERSON und G.I. FORBES (1980):
Milk-borne salmonellosis in Scotland
J. Infect. 2, 333-340

SHARP, J.C.M., P.W. COLLIER, G.I. FORBES, W.J. REILLY und
T.W. HILL (1986):
Foodborne surveillance programme in Europe:
The first six years Experience in Scotland
2nd World Congress Foodborne Infections and Intoxications,
Berlin
(West); Proceedings, Vol. I, p.82-85

SHEPLER, V.M., G.J. PLUMER und J.E. FABER (1963):
Isolation of vibrio fetus from bovine preputial fluid, using
millipore filters and an antibiotic medium
Am. J. Vet. Res. 24, 749-755

SILLIKER, J.H. (1980):
Status of Salmonella - ten years later
J. Food Prot. 43, 307-313

SILLIKER, J.H. und W.J. TAYLOR (1958):
Isolation of salmonellae from food samples.
II. The effect of added food samples upon the performance of
enrichment broths
Appl. Microbiol. 6, 228-232

SIMMONS, N.A. und F.J. GIBBS (1977):
Campylobacter enteritis
Br. Med. J. 2, 264

SIMOR, A.E. und L. WILCOX (1987):
Enteritis associated with Campylobacter laridis
J. Clin. Microbiol. 25, 10-12

SKIRROW, M.B. (1977):
Campylobacter enteritis: a "new" disease
Br. Med. J. 2, 9-11

DERSELBE (1981):
Campylobacter enteritis in dogs and cats: a "new" zoonosis
Vet. Res. Communicat. 5, 13-19

DERSELBE (1982):
Campylobacter enteritis - the first five years
J. Hyg. Camb. 89, 175-184

SKIRROW, M.B. und J. BENJAMIN (1980a):
Differentiation of enteropathogenic Campylobacter
J. Clin. Path. 33, 1122

DIESELBEN (1980b):
"1001" Campylobacters, cultural characteristics of intestinal
Campylobacters from man and animals
J. Hyg. Camb. 85, 427-442

SKIRROW, M.B., G.L. TURNBULL, R.E. WALKER und S.E.J. YOUNG (1980):

Campylobacter jejuni enteritis transmitted from cat to man
Lancet I, 1188

SMIBERT, R.M. (1969):

Vibrio fetus var. *intestinalis* isolated from the intestinal content of birds

Am. J. Vet. Res. 30, 1437-1442

DERSELBE (1974):

Campylobacter

in: BUCHANAN R.E. und N.E. GIBBONS (eds.):

Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed., p. 207-212

Williams und Wilkins, Baltimore

DERSELBE (1984):

Campylobacter

in: KRIEG, N.R. und J.G. HOLT (eds):

BERGEY's manual of systematic bacteriology, Vol. 1., p. 111-118

Williams und WILKINS, Baltimore

SMITH, T. und M.S. TAYLOR (1919):

Morphologie und biology of *Vibrio fetus*

J. Exp. Med. 30, 299-311

SPERBER, W.H. und R.H. DEIBEL (1969):

Accelerated procedure for *Salmonella* detection in dried foods and feeds involving only broth cultures and serological reactions

Appl. Microbiol. 17, 533-539

STALDER, H., R. ISLER, W. STUTZ, M. SALFINGER, S. LAUWERS und

W. VISCHER (1983):

Beitrag zur Epidemiologie von *Campylobacter jejuni*

Schweiz. med. Wschr. 113, 245-249

STEELE, T.W., N. SANGSTER und J.A. LANSER (1985):

DNA relatedness and biochemical features of *Campylobacter* spp. isolated in Central and South Australia

J. Clin. Microbiol. 22, 71-74

STERN, N.J. (1982):

Methods for recovery of *Campylobacter jejuni* from foods

J. Food Prot. 45, 1332-1337

STERN, N.J., P.J. ROTHENBERG und J.M. STONE (1985):

Enumeration and reduction of *Campylobacter jejuni* in poultry and red meats

J. Food Prot. 48, 606-610

STREICHAN, D. (1967):

Das Verhalten einiger menschenpathogener Keime und Bakterientoxine in Lebensmitteln und ihre Abtötung durch eine Hitzebehandlung der Lebensmittel

Arch. Lebensmittelhyg. 18, 284-288

STREICHAN, D. (1980):

Kontamination der Milch mit Salmonellen

Dtsch. tierärztl. Wschr. 87, 141-142

SVEUM, W.H. und P.A. HARTMAN (1977):

Time-release capsula method for the detection of salmonellae in foods and feeds

Appl. Environ. Microbiol. 33, 630-634

SWAMINATHAN, B., J.A.G. ALEIXO und S.A. MINNICH (1985):

Enzyme immunoassays for Salmonella one-day testing is now a reality

Food Technol. 39 (3), 83-89

TANNER, A.C.R., S. BADGER, C.H. LAI, M. LISTGARTEN, R.A.

VISCONTI und S.S. SOCRANSKY (1981):

Wolinella gen. nov., Wollinella succinogenes (Vibrio succinogenes WOLIN et al.) comb. nov., and description of Bacteroides gracilis sp. nov., Wolinella recta sp. nov., Campylobacter concisus sp. nov. and Eikenella corrodens from humans with peridontal disease

Int. J. Syst. Bact. 31, 432-445

TAUXE, R.V., C.M. PATTON, P. EDMONDS, T.J. BARRETT, D.J.

BRENNER und P.A. BLAKE (1985):

Illness associated with Campylobacter laridis, a newly recognized Campylobacter species

J. Clin. Microbiol. 21, 222-225

TAYLOR, W.J. (1965):

Isolation of shigellae.

I. Xylose-lysine-agars: new media for isolation of enteric pathogens

Am. J. Clin. Path. 44, 471-475

TAYLOR, D.N., J.M. BIED, J.S. MUNRO und R.A. FELDMAN (1982a):

Salmonella dublin infections in the United States, 1979-1980

J. Inf. Dis. 146, 322-327

TAYLOR, D.N., B.W. PORTER, C.A. WILLIAMS, H.G. MILLER, C.A.

BOPP und P.A. BLAKE (1982b):

Campylobacter enteritis: a large outbreak traced to commercial raw milk

West. J. Med. 137, 365-369

TEE, W., B.N. ANDERSON, B.C. ROSS und B. DWYER (1987):

Atypical Campylobacters associated with gastroenteritis

J. Clin. Microbiol. 25, 1248-1252

TERHUNE, C., E. SAZI, N. KALISHMAN, J. BOBST, B. BONNLANDER, J.A. GOOGINS und P. WILLIAMS (1981):
Raw milk associated illness - Oregon, California
MMWR 30, 90-92 und 97

TEUFEL, P. (1983):
Arbeitsunterlagen für den Vortrag: *Campylobacter* - ein Zoonoseerreger
Bakterielle Lebensmittelvergiftungen, Tagung Nr. T-50-311-122-4, Haus der Technik, Essen

TODD, E.C.D. (1978):
Foodborne disease in six countries - comparison
J. Food Prot. 41, 559-565

DERSELBE (1988):
Foodborne and waterborne disease in Canada - 1982.
Annual summary.
J. Food Prot. 51, 56-65

TONGPIM, S., R.R. BEUMER, S.K. TAMMINGA und E.H. KAMPELMACHER (1984):
Comparison of modified Rappaport's medium (RV) and Muller-Kauffmann (MK-ISO) for the detection of *Salmonella* in meat products
Int. J. Food Microbiol. 1, 33-42

TOTTEN, P.A., C.L. FENELL, F.C. TENOVER, J.M. WEZENBERG, P.L. PERINE, W.E. STAMM und K.H. HOLMES (1985):
Campylobacter cinaedi (sp.nov.) and *Campylobacter fennelliae* (sp. nov.): two new *Campylobacter* species associated with enteric disease in homosexual men
J. Inf. Dis. 151, 131-139

TURNBULL, P.C.B. und P. ROSE (1982):
Campylobacter jejuni and *Salmonella* in raw red meats
J. Hyg. Camb. 88, 29-37

Van SCHOTHORST, M. und F.M. Van LEUSDEN (1972):
Studies on the isolation of injured salmonellae from foods
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 221, 19-29

DIESELBEN (1975):
Further studies on the isolation of injured salmonellae from foods
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 230, 186-191

Van SCHOTHORST, M. und A.M. RENAUD (1983):
Dynamics of salmonella isolation with modified Rappaport's medium (R10)
J. appl. Bact. 54, 209-215

Van SCHOTHORST, M., A. RENAUD und C. Van BECK (1987):
Salmonella isolation using RVS broth and MLCB agar
Food Microbiol. 4, 11-18

VARELA G. und J. OLARTE (1952):
Classification and distribution of 1075 cultures of
salmonella isolated in the city of Mexico
J. Lab. Clin. Med. 40, 73-77

VASSILIADIS, P. (1983):
The Rappaport-Vassiliadis (RV) enrichment medium for the
isolation of salmonellas: An overview
J. appl. Bact. 54, 69-76

VASSILIADIS, P., E. PATERAKI, N. PAPAICONOMON, J.A. PAPADAKIS
und D. TRICHOPOULOS (1976):
Nouveau procédé d'enrichissement de Salmonella
Ann. Microbiol. (Inst. Past.) 127, B, 195-200

VASSILIADIS, P., D. TRICHOPOULOS, J. PAPADAKIS, V.
KALAPOTHAKI, X. ZAVITSANOS und C. SERIE (1981):
Salmonella isolation with Rappaport's enrichment medium of
different compositions
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 173, 382-389

VELIMIROVIC, B. (1983):
Die Bedeutung der Enteritis infectiosa einschließlich mikro-
biell bedingter Lebensmittelintoxikationen weltweit und in
der europäischen Region
Bundesgesundhbl. 26, 304-313

VERON, M. und R. CHATELAIN (1973):
Taxonomic study of the genus Campylobacter Sebald and Veron
and designation of the type species, Campylobacter fetus
(Smith and Taylor) Sebald and Veron
Int. J. Syst. Bact. 23, 122-134

VINZENT, R., J. DUMAS und N. PICARD (1947):
Septicémie grave au cours de la grossesse, due à un vibrion.
Avortement consécutif.
Bull. Acad. Nat. Med. 131, 90-93

VOGT, R.L., A.A. LITTLE, C.M. PATTON, T.J. BARRETT und L.A.
ORCIARI (1984):
Serotyping and serology studies of campylobacteriosis as-
sociated with consumption of raw milk
J. Clin. Microbiol. 20, 998-1000

WALZBERG, U. und A. BERGFELD (1959):
Rückschau auf sechs Jahre Vorzugsmilchuntersuchungen im Raum
Weser-Ems
Arch. Lebensmittelhyg. 10, 54-56

WARREN, J.R. (1983):

Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis
Lancet I, 1273-1275

WATERMAN, S.C. (1982):

The heat-sensitivity of *Campylobacter jejuni* in milk
J. Hyg. Camb. 88, 529-533

WATERMAN, S.C. und R.W.A. PARK (1982):

Survival of *Campylobacter jejuni* and some implications for public health
J. appl. Bact. 53, XIII

WATERMAN, S.C., R.W.A. PARK und A.J. BRAMLEY (1984):

A search for the source of *Campylobacter jejuni* in milk
J. Hyg. Camb. 93, 333-337

WEIGT, U., M. MÖLLER und E. BLECKMANN (1972):

Kasuistischer Beitrag zur Salmonelleninfektion des Euters
Dtsch. tierärztl. Wschr. 13, 324-327

WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe (1984):
Newsletter No. 7

Robert von Ostertag Institut, Berlin West

WILSON, C.R., W.H. ANDREWS, P.L. POELMA und V.R. BRUCE (1988):

Recovery of *Salmonella* from fluid milk
J. Food Prot. 51, 409-411

WILSON, W.J. (1938):

Isolation of *Bact. typhosum* by means of bismuth sulphite medium in water and milk-borne epidemics
J. Hyg. Camb. 38, 507-519

WILSON, W.J. und E.M. McV. BLAIR (1927):

Use of glucose bismuth sulphite iron medium for the isolation of *B. typhosus* and *B. proteus*
J. Hyg. Camb. 26, 374-391

WRAY, C. und W.J. SOJKA (1977):

Reviews of the progress of dairy science: bovine salmonellosis
J. Dairy Res. 44, 383-425

WRIGHT, E.P., H.E. ILLETT, J.T. HAGUE, F.G. CLEGG, R.

DARNELL, J.A. CULSHAW und J.A. SORRELL (1983):
Milk-borne *campylobacter* enteritis in a rural area
J. Hyg. Camb. 91, 227-233

WUNDT, W. und G. KASPER (1982):

Enterocolitis durch *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* -
Epidemiologie und Seuchenhygiene unter besonderer Berücksichtigung des Bundesseuchengesetzes und amtsärztliche Maßnahmen

Öff. Gesundh.-Wes. 44, 357-360

WUNDT, W., A. KUTSCHER und G. KASPER (1985):

Untersuchungen zum Verhalten von *Campylobacter jejuni* in verschiedenen Lebensmitteln

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 180, 528-533

WYATT, C.J. und E.M. TIMM (1982):

Occurence and survival of *Campylobacter jejuni* in milk and turkey

J. Food Prot. 45, 1218-1220

YOSHIKAWA, T.T., P. ERBERT und P.A. OILL (1980):

Salmonellosis

West. J. Med. 133, 408-417

ZWICK und WEICHEL (1910):

Bakt. Untersuchungen über die Erreger der Mastitis acuta des Rindes mit besonderer Berücksichtigung der Beteiligung von sogenannten Fleischvergiftungserregern an der Entstehung der Krankheit

Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamte 34, 391-445

Abschließend möchte ich Herrn Professor Dr. G. Terplan für die Überlassung des Themas und für seine Unterstützung danken.

Herrn Veterinärdirektor Dr. B. Müller gilt mein Dank für die großzügige Bereitstellung von Materialien und Laborgeräten, welche für die durchgeführten Untersuchungen benötigt wurden.

Ganz besonders bedanke ich mich bei Herrn Dr. H. Becker für die stets gewährte Hilfe und die vielen sinnvollen Anregungen bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Weiterhin danke ich allen, die mir bei der Durchführung der Versuche sehr wertvolle Hilfe geleistet haben, insbesondere Herrn Dr. Sabolic, Herrn Dr. Gerlach, sowie Herrn Eisele.

Auch meinem Mann, meinen Eltern, Schwiegereltern und meiner Großmutter möchte ich ganz herzlich für all ihre zahlreichen Unterstützungen danken, die ein Gelingen der Arbeit überhaupt erst ermöglichten.

Lebenslauf

Name Ursula Scheirle, geb. Fichtner

Geboren am 28. Juli 1959 in Leipheim / Kreis Günzburg

Eltern Walter Fichtner, Werkzeugmachermeister
Olga Fichtner, Sekretärin

Familienstand Verheiratet seit Sept. 1985 mit dem Tierarzt Michael
Johannes Scheirle
Geburt im Juni 1987 der Tochter Anne Katrin
Geburt im November 1988 des Sohnes Kuno Johannes

Schulen 1966 - 1969 Schillervolksschule Aalen
1969 - 1976 Theodor - Heuss - Gymnasium Aalen
1976 - 1979 Frauenberufliches Gymnasium Aalen
1979 Abitur

Hochschule Ab Wintersemester 1979/80 Studium der Tiermedizin an der
Ludwig - Maximilians - Universität München (LMU)
Sept. 1980 Vorphysikum
Sept. 1981 Physikum
März 1983 1. Teil der Tierärztlichen Prüfung
April 1984 2. Teil der Tierärztlichen Prüfung
Aug. 1985 3. Teil der Tierärztlichen Prüfung

Seit Nov. 1985 Anfertigung meiner Dissertation am Lehr-
stuhl für Hygiene und Technologie der Milch der LMU über das
Staatliche Tierärztliche Untersuchungsamt Aulendorf

